

**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

**Facultad de Ingeniería**

**Departamento de Ingeniería en Ciencias de Alimentos**



**DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS  
EN EMBUTIDOS MADURADOS TIPO SNACKS**

Trabajo de graduación presentado por  
Yvonne Alejandra Medrano Medina

para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Ciencias de Alimentos

Guatemala  
2010



**DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS  
EN EMBUTIDOS MADURADOS TIPO SNACKS**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

**Facultad de Ingeniería**

**Departamento de Ingeniería en Ciencias de Alimentos**



**DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS  
EN EMBUTIDOS MADURADOS TIPO SNACKS**

Trabajo de graduación presentado por  
Yvonne Alejandra Medrano Medina

para optar al grado de Licenciado en Ingeniería en Ciencias de Alimentos

Guatemala  
2010

Vo. Bo.:

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Teresita de Miranda", written over a horizontal line.

Lda. Teresita de Miranda

Tribunal:

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Teresita de Miranda", written over a horizontal line.

Lda. Teresita de Miranda

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Ana Silvia Colmenares", written over a horizontal line.

Lda. Ana Silvia Colmenares

A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Patricia de Palomo", written over a horizontal line.

Lda. Patricia Palomo

Fecha de Aprobación: 11 de Octubre, 2010

## DEDICATORIA

A mi familia quien me ha enseñado que lo más valioso en esta vida es el amor, la felicidad, la disciplina y la comunicación.

A Rodrigo, por ser mi motivación y la razón para ser cada día mejor.

A mi madre, por ser un ejemplo de lucha y de fortaleza y por darme su amor siempre que lo necesité.

A Roberto, quien me enseñó a mantener una fe inquebrantable en mí y en mis sueños.

Finalmente a mi padre por enseñarme a caminar y a mantenerme en la ruta del éxito.

## AGRADECIMIENTOS

Primero que nada quiero agradecer a la Lda. Ana Silvia Colmenares por creer en mí, por siempre exigirme más y por haberme incentivado a realizar este trabajo.

Agradezco también a la Lda. Teresita Aguilar de Miranda por su indispensable colaboración para la realización y culminación de este trabajo.

Finalmente quiero agradecer al Lic. Peter Hamm, por abrirme las puertas y darme la oportunidad para realizar este trabajo.

# ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	X
LISTA DE GRÁFICAS.....	XI
RESUMEN.....	XII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
A. Alimentos funcionales.....	3
B. Probióticos como alimentos funcionales.....	4
1. Origen del término probiótico.....	4
C. Probióticos en el organismo humano y mecanismo de acción.....	5
D. Efectos sobre la salud.....	7
E. Probióticos en los alimentos.....	9
F. Embutidos madurados o fermentados.....	10
1. Proceso de maduración de embutidos.....	11
2. Primera fase de la maduración: diferenciación bacteriana.....	11
3. Segunda fase de la maduración: diferenciación bacteriana.....	13
G. Probióticos en embutidos madurados.....	13
III. JUSTIFICACIÓN.....	16
IV. OBJETIVOS.....	18
A. General.....	18
B. Específicos.....	18
V. METODOLOGÍA.....	19
A. Diseño experimental.....	19

B.	Métodos de análisis.....	20
1.	Pruebas fisicoquímicas.....	20
2.	Pruebas microbiológicas.....	22
C.	Diagrama de flujo del proceso productivo .....	23
VI.	RESULTADOS.....	24
VII.	DISCUSIONES .....	39
VIII.	CONCLUSIONES.....	49
IX.	RECOMENDACIONES .....	50
X.	BIBLIOGRAFÍA .....	52
XI.	ANEXOS.....	56
A.	FOTOGRAFÍAS .....	56

## LISTA DE TABLAS

Tabla No. 1. Agentes probióticos .....	5
Tabla No. 2. Clasificación de los embutidos fermentados .....	10
Tabla No. 3. Cultivos iniciadores más utilizados.....	14
Tabla No. 4. Procedimiento para determinación de viabilidad de microorganismos.....	22
Tabla No. 5. Diagrama de flujo del proceso .....	23
Tabla No. 6. Identificación de las muestras.....	24
Tabla No. 7. Valor del pH presentado en las muestras de los cuatro lotes. ....	25
Tabla No. 8. Porcentaje de acidez con base a ácido láctico determinado en las muestras de los cuatro lotes. ....	26
Tabla No. 9. Actividad de agua en las muestras de los cuatro lotes. ....	27
Tabla No. 10. Porcentaje de humedad en las muestras de los cuatro lotes.....	28
Tabla No. 11. Unidades formadoras de colonias en las muestras de los cuatro lotes. ....	29
Tabla No. 12. Unidades formadoras de colonias (en base logarítmica) en las muestras de los cuatro lotes. ....	30
Tabla No. 13. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 01..	32
Tabla No. 14. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 02..	33
Tabla No. 15. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 03..	33
Tabla No. 16. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 04..	35
Tabla No. 17. Valores de media y desviación estándar para todas las pruebas realizadas.	36
Tabla No. 18. Análisis del proceso de producción del embutido con base a pH, actividad de agua y viabilidad para todos los lotes.....	37
Tabla No.19. Porcentaje de sodio en el producto final.....	38

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica No. 1. Valor del pH a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes.....	25
Gráfica No. 2. Porcentaje de acidez en base a ácido láctico a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes. ....	26
Gráfica No. 3. Actividad de agua a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes. ....	27
Gráfica No. 4. Porcentaje de humedad a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes.....	28
Gráfica No.5. Variación de la cantidad de ufc (unidades formadoras de colonias) a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes. ....	29
Gráfica No. 6. Variación logarítmica de las ufc (unidades formadoras de colonias) a lo largo del proceso para los cuatro lotes. ....	30
Grafica No. 7. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 01.....	32
Grafica No.8. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 02.....	33
Grafica No.9. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 03.....	34
Grafica No.10. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 04.....	35
Gráfica No. 11. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para todos los lotes. ....	37

## RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo principal determinar la viabilidad de microorganismos con potencial probiótico en embutidos madurados tipo snacks. Para esto se determinaron las características microbiológicas y fisicoquímicas del embutido durante todo el proceso de maduración, secado y almacenamiento, con el fin de determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias de estos microorganismos durante todo el proceso productivo.

Las pruebas fisicoquímicas que se llevaron a cabo fueron: acidez, pH, humedad y actividad de agua, todas basadas en los métodos oficiales de la AOAC respectivos. También se determinó la viabilidad de los probióticos presentes en el embutido fermentado por medio del método de siembra con agar MRS. Como ya se mencionó, estas pruebas se hicieron durante todo el proceso para determinar el comportamiento de los microorganismos probióticos que son de interés.

Con los datos se realizaron los cálculos necesarios para obtener los resultados y así analizar el comportamiento tanto de las características fisicoquímicas como microbiológicas del embutido. De esta forma se pudo determinar que la viabilidad de los probióticos aumenta durante el estufaje y la maduración y que disminuye muy poco durante su almacenamiento. Se demostró que la etapa del proceso que más afecta el desarrollo y crecimiento de los microorganismos es el almacenamiento.

Los resultados y las conclusiones de este trabajo son de suma importancia para la industria de embutidos guatemalteca, ya que se determinó que los embutidos madurados tipo snacks pueden ser considerados alimentos probióticos, es decir los consumidores pueden obtener estos microorganismos beneficiosos al consumir este tipo de producto.

## I. INTRODUCCIÓN

Actualmente una de las tendencias del mercado es la elaboración de productos con pre y probióticos, lo cual se debe al rápido incremento de conocimiento de algunos consumidores por términos como: el sistema digestivo, la microflora intestinal y los factores que pueden alterarla o mejorarla.

El término de probióticos se refiere a un conjunto de microorganismos viables, presentes ya sea en una preparación o en un matriz alimentaria (generalmente son lactobacilos y bifidobacterias) en cantidades suficientes para alterar la microflora intestinal del huésped y por consiguiente tener efectos benéficos para la salud (Schrezenmeir J, de Vrese M, 2001). Hay suficientes estudios científicos que demuestran que el mantenimiento de una microflora intestinal saludable mejora ciertos aspectos de la salud y que los probióticos contribuyen a mantenerla. (Lacroix, Yildirim, 2007)

Los probióticos deben cumplir con ciertos criterios: deben tener propiedades saludables científicamente validadas, deben ser de fácil reproducción y de fácil incorporación a los alimentos, y además deben mantenerse viables en el producto sin perder características funcionales y sin alterar las características sensoriales del alimento. Adicionalmente un probiótico debe tener una alta tasa de sobrevivencia a los diferentes procesos que será sometido el producto. (Mattila-Sandholm T, *et al.* 2002) (Champagne CP, *et al.* 2005)

Por todo lo mencionado anteriormente, hay una serie de retos a nivel tecnológico para los productos con probióticos, ya que éstos son muy susceptibles a cambios del entorno, como la acidez, la cantidad de oxígeno, la temperatura y la presión. Cabe destacar que para producir un beneficio en los huéspedes, los probióticos deben atravesar

el tracto gastrointestinal y deben soportar los ácidos gástricos, las sales biliares y otra serie de condiciones adversas que disminuyen la cantidad de probióticos, provocando que sólo un pequeño número llegue al intestino y se adhiera a la microflora intestinal. Por esta razón, la viabilidad de los probióticos es un parámetro clave para el desarrollo de productos. A pesar que la cantidad exacta de probióticos necesarios para producir un efecto terapéutico en un individuo es desconocida, se sabe que el nivel mínimo de microorganismos viables debe ser de  $10^6$  ufc/g de alimento. (Ouwehand AC, Salminen SJ, 1998) (Lacroix, Yildirim, 2007)

## II. ANTECEDENTES

### A. Alimentos funcionales

Los alimentos funcionales nacieron en Japón a principios de los años ochenta como una necesidad para prevenir enfermedades debido al aumento de la edad promedio. Estos alimentos se consumen como parte de una dieta normal, pero tienen el beneficio de contener componentes biológicamente activos los cuales ofrecen un beneficio para la salud y además reducen el riesgo de sufrir ciertas enfermedades. Puede decirse entonces que un alimento funcional además de cumplir su función nutricional, ayuda a la prevención y disminución de síntomas y enfermedades. (No-Seong K., Jukes, DJ. 1998)

Un alimento funcional se define como aquel que actúa beneficiosamente sobre una o más funciones del cuerpo, más allá de su efecto nutricional, mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedad. Puede ser un alimento natural, un alimento al que se ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos, un alimento en el que se ha modificado la disponibilidad de uno o más de sus componentes o una combinación de cualquiera de estas posibilidades. (Diplock AT, *et al.* 1999) (Isolauri E, da Costa H, Gibson G *et al.* 2000) (Lorente, B. Dalmau, J. 2001)

Actualmente no existe una definición única para alimentos funcionales, y cada país tiene una definición diferente, pero muy similar de este tipo de alimentos. (No-Seong K., Jukes, DJ. 1998)

## B. Probióticos como alimentos funcionales

Debido a que el consumo de alimentos con probióticos presenta propiedades fisiológicas beneficiosas y reduce el riesgo de contraer ciertas enfermedades, las cuales serán explicadas más adelante, estos pueden catalogarse como alimentos funcionales.

1. Origen del término probiótico. El término probiótico es derivado del griego *pro* que significa “a favor de” y biótico “vida”, así que el término significa “a favor de la vida o para la vida”. Fue utilizado por primera vez por Lilly y Stillwell en 1965 para describir “una sustancia secretada por un microorganismo, la cual estimula el crecimiento de otro”. En 1971 Sperti aplicó el término a un conjunto de extractos que estimulan el crecimiento microbiano. Sin embargo, fue Parker quien utilizó este término como se conoce actualmente: “organismos y sustancias que contribuyen al balance de la microbiota intestinal. En 1989, Fuller intentó mejorar la definición de Parker estableciendo lo siguiente: “un microorganismo vivo que se consume en forma de suplemento, el cual afecta al huésped mejorando el balance de la microbiota intestinal”. Esta última definición ya hace énfasis en el requerimiento de la viabilidad de los probióticos y además introduce el aspecto del efecto beneficioso sobre el huésped. No fue hasta 1992, que Havennar *et al*, definieron a los probióticos como un conjunto de microorganismos, ya sea iguales o distintos, que al aplicarlos a animales o humanos ejercen un efecto beneficioso mejorando las propiedades de la microflora intestinal endógena. (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001)

Como se ha visto hasta el momento el término de probióticos se ha modificado con el tiempo y actualmente no existe una definición única. Muchos expertos han debatido acerca de la definición exacta de un probiótico. Una definición ampliamente utilizada, desarrollada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Food and Drug

Administration (FDA) es que el término de probióticos se refiere a un conjunto de microorganismos viables, presentes ya sea en una preparación o en una matriz alimentaria en cantidad suficiente para alterar la microflora intestinal del huésped y por consiguiente tener efectos benéficos para la salud (Schrezenmeir J, de Vrese M, 2001) (Doron S., Gorbach SL, 2006)

### C. Probióticos en el organismo humano y mecanismo de acción

La microflora o microbiota intestinal se adquiere durante el periodo neonatal y permanece más o menos estable el resto de la vida y aunque depende de diversos factores, como el uso de antibióticos o la dieta, etc., no es fácil modificarla de forma definitiva. (Diplock AT, *et al.* 1999) (Lorente, B. Dalmau, J. 2001)

A continuación se presenta una tabla con los diferentes agentes probióticos que pueden encontrarse en la microflora intestinal de una persona.

Tabla No. 1. Agentes probióticos

<b>Lactobacillus</b>	<b>Bifidobacterium</b>	<b>Otros</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>L. acidophilus</i></li> <li>• <i>L. casei: GG, rhamosum</i></li> <li>• <i>L. bulgaricus</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>B. bifidum</i></li> <li>• <i>B. longum</i></li> <li>• <i>B. breve</i></li> <li>• <i>B. infantis</i></li> <li>• <i>B. animalis</i></li> <li>• <i>B. spp</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Streptococcus thermophilus</i></li> <li>• <i>Saccharomyces boulardii</i></li> </ul>

(Lorente, B. Dalmau, J. 2001)

Los probióticos tienen diferentes mecanismos de acción, los cuales pueden darse a través de:

- Acidificación del medio intestinal. (Saavedra JM. 1995) (Vanderhoof JA, Young RJ. 1998)
- Segregación de sustancias que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos. (Saavedra JM. 1995) (Vanderhoof JA, Young RJ. 1998)
- Consumo de nutrientes específicos o unión competitiva a receptores individuales con el fin de inhibir crecimiento de microorganismos patógenos. (Saavedra JM. 1995) (Vanderhoof JA, Young RJ. 1998)

Además presentan propiedades inmunomoduladoras:

- modifican la respuesta a antígenos. (Nieto A. 1999)
- aumentan la secreción de IgA específica frente a rotavirus. (Kaila M. *et al.* 1992) (Majamaa H. *et al.* 1995)
- facilitan la captación de antígenos en la placa de Peyer. (Isolauri E, *et al.* 1993)

Cabe mencionar que mediante la disminución del crecimiento de bacterias que convierten los procarcinógenos en carcinógenos, el consumo de enzimas procarcinogénicas o a través de la producción de sustancias inhibidoras de dichas enzimas, es posible que los probióticos disminuyan el desarrollo de determinados tumores. (Marteau P, Pochart P, Flourié B *et al.* 1990) (Aso Y, Akazan H. *et al.* 1995) (Lorente, B. Dalmau, J. 2001)

Los probióticos también aumentan la actividad enzimática de las hidrolasas de las sales biliares que se unen al colesterol y ayudan a su eliminación, razón por la cual tienen un efecto hipocolesterolémico. Además mediante la producción de triglicéridos de cadena corta inhiben la síntesis de colesterol, lo redistribuyen desde el plasma al hígado y, por deconjugación de las sales biliares, el colesterol no se reabsorbe y es utilizado para la síntesis de ácidos biliares. (St-Onge MP, Farnworth ER, Jones PJM. 2000) (Lorente, B. Dalmau, J. 2001)

Los mecanismos de acción previamente mencionados están aún bajo evaluación, ya que en varios casos no se cuentan con suficientes datos que den una evidencia válida y científica. (De Roos NM, Katan MB.2000)

## D. Efectos sobre la salud

Como ya se mencionó anteriormente, en el sistema digestivo del organismo humano encontramos diferentes bacterias residentes como *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus bulgaricus*. (Trene, N. 1998)

Hay suficientes estudios científicos que demuestran que el mantenimiento de una microflora intestinal saludable mejora ciertos aspectos de la salud y que los probióticos contribuyen a mantenerla. (Lacroix, Yildirim, 2007)

El efecto que tienen los probióticos sobre la salud de un individuo son numerosos y se han estudiado y comprobado científicamente. A continuación se enumeran los efectos que se encuentran documentados. (Shrezenmeier J., de Vrese M. 1998)

- Disminuyen la frecuencia y la duración de la diarrea asociada a antibióticos (*Clostridium difficile*), infección por rotavirus, quimioterapia y la diarrea de viajero. (Doron S., Gorbach SL, 2006)
- Estimula el sistema inmunológico (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001)
- Disminuye los metabolitos no favorables como aminio y enzimas procancerogénicas en el colon. (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001)
- Estabiliza el sistema digestivo y la microflora intestinal. (De Vuist L., *et al.* 2008)

También hay cierta evidencia acerca de los siguientes beneficios

- Reducción de infección por *Helicobacter pylori* (Huebner ES., Surawicz CM.2006) (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001) (Doron S., Gorbach SL, 2006)

- Reducción de infección por patógenos como *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Clostridium difficile*. (De Vuist L., *et al.* 2008) (Mercenier, A., Pavan, S. *et al.* 2003)
- Reducción de infecciones del tracto digestivo y del tracto respiratorio. (De Vuist L., *et al.* 2008) (Mercenier, A., Pavan, S. *et al.* 2003)
- Reducción de reacciones alérgicas (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001) (Doron S., Gorbach SL, 2006)
- Reduce la constipación (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001) (De Vuist L., *et al.* 2008) (Mercenier, A., Pavan, S. *et al.* 2003)
- Efecto beneficioso en el metabolismo mineral. (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001)
- Prevención de cáncer. (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001)
- Reducción de colesterol y concentraciones de triacilglicerol en el plasma sanguíneo (hay poca evidencia al respecto). (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001) (De Vuist L., *et al.* 2008) (Mercenier, A., Pavan, S. *et al.* 2003)
- Disminuye la intolerancia a la lactosa. (Doron S., Gorbach SL, 2006) (De Vuist L., *et al.* 2008) (Mercenier, A., Pavan, S. *et al.* 2003)
- Reduce el síndrome del colon irritable. (Shrezenmeier J., de Vrese M. 2001) (De Vuist L., *et al.* 2008)
- Aumenta biodisponibilidad de nutrientes como vitaminas y minerales. (De Vuist L., *et al.* 2008)
- Actividad anti carcinogénica. (De Vuist L., *et al.* 2008) (Mercenier, A., Pavan, S. *et al.* 2003)
- Reduce enfermedades de riesgo atópico y alergias. (De Vuist L., *et al.* 2008)

Cabe destacar que para obtener los beneficios de los probióticos, estos deben consumirse de forma regular, como parte de una dieta diaria normal y además estos deben ser viables, es decir que deben estar vivos y poder reproducirse tanto dentro de la matriz alimentaria, como dentro del huésped. (Mattila-Sandholm T, *et al.* 2002) (Champagne CP, *et al.* 2005)

## E. Probióticos en los alimentos

Para poder obtener los beneficios de los probióticos, primero debemos consumirlos. Estos pueden obtenerse ya sea a través de los alimentos o como suplementos alimenticios. (Trene, N. 1998)

Antes de ejercer un beneficio a la salud del huésped los productos probióticos deben cumplir ciertos requisitos:

- deben tener propiedades saludables científicamente validadas. (Mattila-Sandholm T, et al. 2002) (Champagne CP, *et al.* 2005)
- deben ser seguros (Mattila-Sandholm T, et al. 2002) (Champagne CP, *et al.* 2005)
- deben tener buenas propiedades tecnológicas: deben ser de fácil reproducción y de fácil incorporación a los alimentos sin perder viabilidad. (Mattila-Sandholm T, *et al.* 2002) (Champagne CP, *et al.* 2005) (de Vuist L, *et al.* 2008) (Erkkilä, S. Petäjä, E. 2000)
- deben mantenerse viables en el producto sin perder características funcionales y sin alterar las características sensoriales del alimento. (Mattila-Sandholm T, *et al.* 2002) (Champagne CP, *et al.* 2005)

Adicionalmente un probiótico debe tener una alta tasa de sobrevivencia a los diferentes procesos que será sometido el producto y al proceso de almacenamiento. (Mattila-Sandholm T, *et al.* 2002) (Champagne CP, *et al.* 2005)

Otros autores hacen énfasis en otras propiedades aparte de la viabilidad durante el procesamiento. Los productos probióticos deben tener ciertas características como:

- tolerancia a ácidos y sales biliares (Shah N.P, 2000) (de Vuist L, *et al.* 2008)
- antagonismo con otras bacterias presentes en el alimento (Shah N.P, 2000)
- propiedad de adherencia al intestino (Shah N.P, 2000)
- interacción con la microbiota residente (de Vuist L, *et al.* 2008)

Por todo lo mencionado anteriormente, hay una serie de retos a nivel tecnológico para los productos con probióticos, ya que éstos son muy susceptibles a cambios del entorno, como la acidez, la cantidad de oxígeno, la temperatura y la presión. Cabe destacar que para producir un beneficio en los huéspedes, los probióticos deben atravesar el tracto gastrointestinal y deben soportar los ácidos gástricos, las sales biliares y otra serie de condiciones adversas que disminuyen la cantidad de probióticos, provocando que sólo un pequeño número llegue al intestino y se adhiera a la microflora intestinal. Por esta razón, la viabilidad de los probióticos es un parámetro clave para el desarrollo de productos. A pesar de que la cantidad exacta de probióticos necesarios para producir un efecto terapéutico en un individuo es desconocida, se sabe que el nivel mínimo de microorganismos viables debe ser de  $10^6$  ufc/g de alimento. (Ouwehand AC, Salminen SJ, 1998) (Lacroix, Yildirim, 2007)

## F. Embutidos madurados o fermentados

El concepto de maduración del embutido comprende diferentes procesos que tienen lugar en el embutido crudo una vez elaborada la masa. Los procedimientos de maduración son los que originan las características típicas de estos productos. (Schiffner E. *et al.* 2005)

Los embutidos madurados se caracterizan por una vida útil bastante prolongada. Pueden clasificarse en secos y semisecos. (Essien, E. 2005)

Tabla No. 2. Clasificación de los embutidos fermentados

<b>Secos</b>	<b>Semisecos</b>
Salami	Salchichas cervelat
Pepperoni	Líbano Bolonia
Génova	

(Essien, E. 2005)

Tradicionalmente los embutidos fermentados se elaboran empleando bacterias ácidas presentes de forma natural en la carne o mediante la inoculación de un lote nuevo y otro antiguo. Durante este proceso se utilizan ingredientes para el curado, especias y puede o no utilizarse un cultivo iniciador. (Essien, E. 2005) La introducción de estos microorganismos al embutido se realiza durante el picado o cuando la mezcla se introduce en las tripas, luego se fermenta y por último se seca. (Essien, E. 2005)

1. Proceso de maduración de embutidos. La maduración o fermentación se desarrolla en dos fases. Durante la primera, predominan las actividades reproductoras y metabólicas de las bacterias (ya sean estas endógenas o exógenas). Esta fase concluye con la diferenciación bacteriana y se caracteriza por la aparición de ácidos grasos volátiles, sobre todo de ácido pirúvico y ácido láctico. Generalmente esta fase es conocida como el estufaje, la cual consiste en dar las condiciones adecuadas para el desarrollo de las bacterias. (Yagüe A., Yagüe F. 1992)

Durante la segunda fase comienza una lenta, pero constante, disminución del número de bacterias. En ésta dominan los procesos de descomposición y transformación, en donde se descomponen los ácidos grasos volátiles producidos en la primera fase, formándose así el típico aroma del producto. (Schiffner E. *et al.* 2005)

2. Primera fase de la maduración: diferenciación bacteriana. El número inicial de bacterias en la masa del embutido es en promedio de  $5 \times 10^6$  ufc/g. La flora bacteriana está formada por numerosas bacterias intestinales del hombre y de los animales, tales como enterobacterias, colibacterias y bacterias ácido lácticas. Estas bacterias presentan un crecimiento óptimo a una temperatura de entre 10 y 20°C. Es importante mencionar que durante la maduración es necesario crear un ambiente de desarrollo óptimo para las bacterias productoras de ácido láctico, para que así disminuya el pH del producto y se inhiba el crecimiento de bacterias patógenas. (Schiffner E. *et al.* 2005)

Para facilitar el crecimiento de las bacterias productoras de ácido láctico existen varias posibilidades: (Schiffner E. *et al.* 2005)

- regulación de la temperatura óptima: la temperatura ideal es de 22 a 25°C
- disponibilidad de nutrientes en cantidades suficientes: las bacterias necesitan agua, proteínas, vitaminas y carbohidratos. Los tres primeros se encuentran en la masa, pero los carbohidratos presentes en la masa (glucógeno) están en cantidades reducidas. Debe añadirse glucosa o sacarosa a concentraciones de 0.2 – 0.4%. La adición de azúcar debe ser monitoreada, ya que un exceso de azúcar genera una acidificación precipitada y defectos en la coloración del embutido.
- creación de un microclima apropiado: éste consta de la temperatura ya mencionada y de una humedad de entre el 90 y 95%.
- agregar cultivos iniciadores: a veces, las bacterias endógenas de la carne no son suficientes para el proceso de fermentación por lo que deben inocularse en el producto.

Durante el estufaje también se da el proceso de nitrificación, durante el cual el nitrato es reducido por micrococos nitroreductores. Es importante entonces, la presencia de bacterias nitroreductoras y un medio reductor o ácido, el cual se mantiene gracias al ácido ascórbico agregado y a los ácidos generados por la fermentación. Cabe destacar que la baja del pH debe ser lenta y gradual, ya que una baja muy rápida inhibe el desarrollo de los micrococos. (Yagüe A., Yagüe F. 1992)

Otro aspecto importante del estufaje es el aumento de consistencia del embutido, el cual se produce por la “ligazón” de la pasta. Esto es posible, ya que las proteínas miofibrilares, actina y miosina, solubilizadas en sal en forma de sol pasan a estado de “gel” conforme el pH disminuye. En este estado, todas las partes del embutido se unen entre sí, lo que hace que el embutido tenga una textura compacta. El paso de sol a gel se realiza a un pH de 5.3-5.4. En este momento hay una importante pérdida de agua en el embutido a pesar de la humedad ambiental. (Yagüe A., Yagüe F. 1992)

3. Segunda fase de la maduración: diferenciación bacteriana. En la segunda fase quedan pocas bacterias en la masa del embutido, las principales son las productoras de ácido láctico, micrococos, esporuladores aerobios y algunos mohos. En la primera semana de la segunda fase se tiene aproximadamente  $10^6$ - $10^7$  ufc/g de embutido, pero debido a la disminución de sustancias nutritivas el número total de bacterias disminuye. Además hay que mencionar que la actividad de agua también disminuye debido a la sinéresis o pérdida de agua. Entonces en los embutidos ya madurados, listos para consumir se tiene una población que oscila de  $10^4$  y  $10^6$  ufc/g. (Schiffner E. *et al.* 2005) Sin embargo, se ha llegado a determinar que dentro de algunos embutidos fermentados se encuentran hasta  $10^7$  ufc/g de bacterias después de dos meses de maduración y después de 4 meses de almacenamiento. (Benito *et al.* 2008)

## G. Probióticos en embutidos madurados

Los embutidos secos fermentados o madurados, generalmente no son calentados ni sufren un proceso térmico, lo cual hace que esta matriz alimentaria sea adecuada para contener probióticos. (Ammor, M. S., Mayo, B. 2007) (Arihara, K. 2006).

Adicionalmente hay estudios que demuestran que la matriz alimentaria del embutido protege a los probióticos, haciéndolos más resistentes a las condiciones de tracto digestivo. (Klingberg, T. Budde, B. 2006). Sin embargo también debe tomarse en cuenta el impacto negativo del microambiente del embutido, en particular por las altas concentraciones de sales de cura, el bajo pH y la baja actividad de agua. En general, la viabilidad de los microorganismos dependerá del tipo de cepa que se tenga en la matriz. Por esta razón es muy importante la selección de la cepa. Una alternativa muy común es utilizar como cultivos iniciadores, cepas que se encuentran naturalmente en la carne, las cuales pueden obtenerse de extractos de embutidos fermentados naturales (De Vuist L., *et al.* 2008) (Klingberg, T. Axelsson, L. *et al.* 2005) (Papamanoli, E. 2003) o de extractos de cultivos iniciadores comerciales. (Erkkilä, S. Petäjä, E. 2000)

Como ejemplos de cepas utilizadas como cultivos iniciadores tenemos: *Lactobacillus sakei* Lb3 y *Pediococcus acidilactici* PA-2. Ambas muestran altas tasas de sobrevivencia en condiciones similares a las del sistema digestivo. (Erkkilä, S. Petäjä, E. 2000)

A continuación se muestra una tabla en donde se indican los cultivos iniciadores más utilizados en la industria alimentaria. (de Vuist L, *et al.* 2008)

Tabla No. 3. Cultivos iniciadores más utilizados

<b>Cepa</b>	<b>Aplicación</b>
<i>Lactobacillus casei</i> Imunitass	Mejora el sistema inmune
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota (YIT 9029)	Estabiliza el sistema digestivo
<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 (NCC 533)	Defensas naturales
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	Mejora el sistema digestivo
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (ATCC 53103)	Mejora el sistema digestivo, mejora el sistema inmune
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. lactis Bb12	Estabiliza la flora microbiana, mejora el sistema inmune
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. lactis <i>Bifidus Actiregularis</i> (DN 173-010)	Ayuda al tránsito gastrointestinal
<i>Bifidobacterium breve</i>	Estabiliza el sistema digestivo
<i>Bifidobacterium longum</i> BB 536	Estabiliza el sistema digestivo, mejora el sistema inmune.
VSL#3 (mezcla de ocho cepas de lactobacillus)	Agente bioterapéutico, ayuda al síndrome de colon irritable.
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Agente bioterapéutico, ayuda a diarrea por <i>Clostridium difficile</i> .

Se ha demostrado también que algunas cepas pueden darle un valor agregado al producto, por ejemplo *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 y *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 incrementan la inactivación de E.coli O157:H7 durante el proceso de manufactura. (Muthukumarasamy, P., Holley, R. 2007). *Lactobacillus rhamnosus* FERM P-15120, *L. paracasei* subsp. *Paracasei* FERM P-15121 y *L. sakei* inhiben el crecimiento y la producción de la enterotoxina de *Staphylococcus aureus* (Sameshima *et al.*, 1998).

### III. JUSTIFICACIÓN

Los embutidos fermentados son productos cuya calidad final depende básicamente del proceso de maduración. Éste favorece el crecimiento de microorganismos que mejoran tanto la calidad sensorial como la calidad nutricional del producto (Martín, Colín, Aranda, Benito, & Córdoba, 2007). Además también durante la fermentación está la participación de las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatum*) (Benito *et al.* 2008), *Leuconostoc mesenteroides* y mohos y levaduras. (Ruiz-Moyano *et al.* 2009). Incluso se ha llegado a determinar que dentro de los embutidos fermentados se encuentran hasta  $10^7$  ufc/g de producto después de dos meses de maduración y después de 4 meses de almacenamiento. (Benito *et al.* 2008)

Por esta razón, los embutidos madurados o fermentados son adecuados no sólo para la reproducción y el desarrollo de los microorganismos, sino como una matriz alimentaria viable en donde pueden aprovecharse las propiedades probióticas y bioprotectivas de estos microorganismos. Además los embutidos presentan la ventaja que son alimentos que generalmente no llevan ningún tratamiento térmico que pueda reducir el número de microorganismos viables.

Como respaldo se cuenta con estudios anteriores que demuestran que las cepas aisladas de los embutidos madurados Iberia, que también se han aislado de heces fecales humanas y de heces de cerdos, presentan la habilidad de reproducirse y de mantenerse viables tanto en las condiciones del proceso de maduración como en las condiciones del tracto gastrointestinal (pH bajo, sales biliares y fluidos pancreáticos) de humanos y cerdos. (Ruiz-Moyano, Martín, Benito, Pérez-Nevaldo, & Córdoba, 2008).

Para la industria de embutidos guatemalteca, esta investigación es de suma importancia, ya que además de concluir si su producto es un alimento funcional, éste al ser considerado como probiótico puede posicionarse de forma diferente en el mercado guatemalteco. Actualmente existe una tendencia en el mercado mundial, como en el mercado guatemalteco por consumir productos funcionales, dentro de los cuales se incluyen los probióticos. Por lo tanto, la industria de embutidos de Guatemala podrá ofrecer al mercado un producto funcional que al mismo tiempo sigue siendo un producto Gourmet.

## IV. OBJETIVOS

### A. General

Determinar la viabilidad de probióticos en embutidos madurados tipo snack.

### B. Específicos

1. Monitorear la viabilidad de los probióticos durante el proceso de fermentación (estufaje y maduración) y secado y determinar en que parte del proceso estos se ven afectados.
2. Determinar si la viabilidad de los microorganismos probióticos aumenta, se mantiene o disminuye durante el proceso de almacenamiento y distribución.
3. Determinar los cambios microbiológicos y fisicoquímicos que sufre el embutido durante la maduración.
4. Determinar si el embutido fermentado puede considerarse un alimento probiótico.

## V. METODOLOGÍA

### A. Diseño experimental

Para la realización de esta investigación se trabajó con embutidos madurados tipo snacks. Estos se fabricaron en un proceso batch de 100 libras, en un tiempo aproximado de una semana, con *Pediococcus pentosaceus* y *Staphylococcus xylosus* como cultivos iniciadores.

Para monitorear la viabilidad de los microorganismos probióticos presentes en los embutidos se tomaron muestras durante varias etapas claves del proceso productivo. Inicialmente se pensó tomar siete muestras durante el proceso, las cuales fueron reducidas a cuatro, debido a que la variación tanto de las características fisicoquímicas como microbiológicas en relación a las bacterias acidolácticas, no era significativa. Finalmente se tomaron muestras después del embutido, después del estufaje, después de la maduración y después del empaque.

Cabe mencionar que para determinar si el embutido es un alimento probiótico, debe determinarse si al momento que el consumidor lo consume, éste contiene la cantidad mínima de unidades formadoras de colonias, la cual es de  $10^6$ . Por esta razón se realizaron análisis 15 y 30 días después del empaqueo, ya que se consideró que es el tiempo estimado en que el consumidor consume el producto. No se realizaron análisis con mayor frecuencia ya que la diferencia en cuanto a la población microbiana no es significativa.

Para cada muestra, en general se realizaron los siguientes análisis:

- Humedad: se utilizó una balanza de humedad en base al método de la AOAC 930.15.
- Acidez en términos de ácido láctico. Se determinó de acuerdo al método de la AOAC 942.15.

- pH: se determinó con potenciómetro de acuerdo al método de la AOAC 981.12
- Actividad de agua. Se determinó de acuerdo al método de la AOAC 978.18 por medio del equipo AQUALAB.
- Viabilidad de microorganismos por medio de siembra en agar MRS.

## B. Métodos de Análisis

### 1. Pruebas fisicoquímicas. Procedimiento para la determinación de humedad

- Moler 1g de embutido snack de forma rápida a modo que no haya transferencia de masa de la muestra con el ambiente.
- Encender y preparar la balanza de humedad
- Colocar dentro de la balanza de humedad
- Dejar la muestra en la balanza de humedad hasta peso constante.

### Procedimiento para la determinación de acidez en términos de ácido láctico.

- Preparar 500mL de NaOH 0.1 N
- Pesar 0.5 g de ftalato ácido de potasio
- Disolver en 30mL de agua libre de CO<sub>2</sub>
- Agregar fenolftaleína
- Titular con la solución de NaOH previamente preparada
- Calcular la normalidad del NaOH
- Moler 10 g de muestra sin tripa
- Luego disolver los 10 g de carne sin tripa en 100mL de agua destilada libre de CO<sub>2</sub>.  
Dejar reposar por 24 horas
- Filtrar al vacío y lavar bien el residuo
- Agregar fenolftaleína

- Titular con NaOH en duplicado

Procedimiento para determinación de pH

- Tomar una muestra de 10-20 g de embutido
- Introducir el electrodo en la carne
- Determinar el pH

Procedimiento para determinación de actividad de agua

- Encender el equipo AQUALAB
- Calibrar el equipo con una solución de actividad de agua conocida
- Colocar 5g de muestra en la cápsula
- Cerrar la cápsula y esperar el resultado

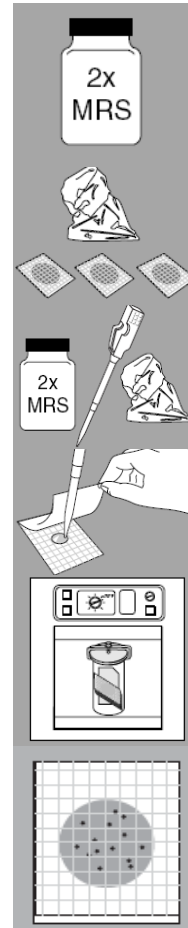
Procedimiento para determinación de porcentaje de sodio. Método de Mohr

- Pesar 4 g de muestra y remojar en un beaker con 120 mL de agua destilada por 24 horas.
- Filtrar al vacío lavando bien el residuo
- Registrar el volumen exacto
- Medir pH con papel indicador. Si  $<7$  o  $>10$  ajustar con NaOH 1.0 M o  $H_2SO_4$  0.5 M
- Llenar bureta con solución de nitrato de plata.
- Realizar blanco con  $H_2O$  destilada y 20 gotas de cromato de potasio.
- Titular hasta coloración rosa-naranja.
- Transferir 10mL de filtrado a un Erlenmeyer de 125mL agregar indicador. Hacer triplicado.

## 2. Pruebas microbiológicas

Tabla No. 4. Procedimiento para determinación de viabilidad de microorganismos  
Se utilizó el procedimiento de múltiples análisis: **concentración 2X MRS**

- Preparar el caldo MRS al doble de concentración y esterilizar.
- Preparar una solución 1:10 de la muestra. 25 g de muestra en 225 ml de agua peptonada.
- Realizar una dilución 1:2 utilizando una pipeta de 1mL. Colocar 0.5mL de dilución 1:10 de la primera dilución y 0.5 mL de caldo MRS 2X.
- Inocular 1mL de la dilución 1:20 en placa petrifilm
- Incubar las placas en una jarra Gaspak de forma anaeróbica a 30-35°C por  $48 \pm 3$  horas.
- Interpretar los resultados, contando el número de colonias y multiplicando por el factor de dilución respectivo.



### C. Diagrama de flujo del proceso productivo

A continuación se presenta una tabla con el diagrama de flujo del proceso de fabricación de un batch de los embutidos tipo snacks.

Tabla No. 5. Diagrama de flujo del proceso

Actividad	Tiempo (horas)	Maquinaria	Temperatura °C	Control	
				pH	Humedad relativa
Estandarización y preparación de materia prima	1	Guillotina y molino	-3-0	-	-
Mezclado de materia prima	¼	Mezcladora de vacío	-5-0	-	-
Homogenización de partícula	1/4	Molino con separador	-3-0	7	
Embutido del producto	1/3	Embutidora al vacío	0-3	-	-
Colgado del producto	1/6	Carros de 500 libras	3-5	-	-
Estufaje	24-36	Cuarto de estufaje	25	<5	>92%
Maduración	24	Cuarto de maduración	<18		<80%
Inactivación	1	Horno	45°C	-	-
Temporización	4	Cuarto de mantenimiento	5-10	-	-
Empaque al vacío	24-48	Cuarto de empaque	10-15	-	-
Almacenamiento	variable	Cuarto frío	-	-	-

## VI. RESULTADOS

Los análisis fisicoquímicos realizados al embutido fueron: pH, la acidez con base al ácido láctico, la actividad de agua y la humedad. Todos estos análisis se realizaron al finalizar el embutir, el estufaje, la maduración y el empaçado. Para monitorear el desarrollo de los microorganismos probióticos se hicieron pruebas 15 y 30 días después de empaçado, ya que es el tiempo estimado en el cual el producto es consumido.

Estos análisis se realizaron a 4 lotes de producción de 100 libras cada uno, producidos bajo las mismas condiciones. Es decir que la materia prima utilizada es la misma y que las condiciones de tiempo y temperatura durante el proceso fueron las mismas.

Las muestras se identificaron de la siguiente forma:

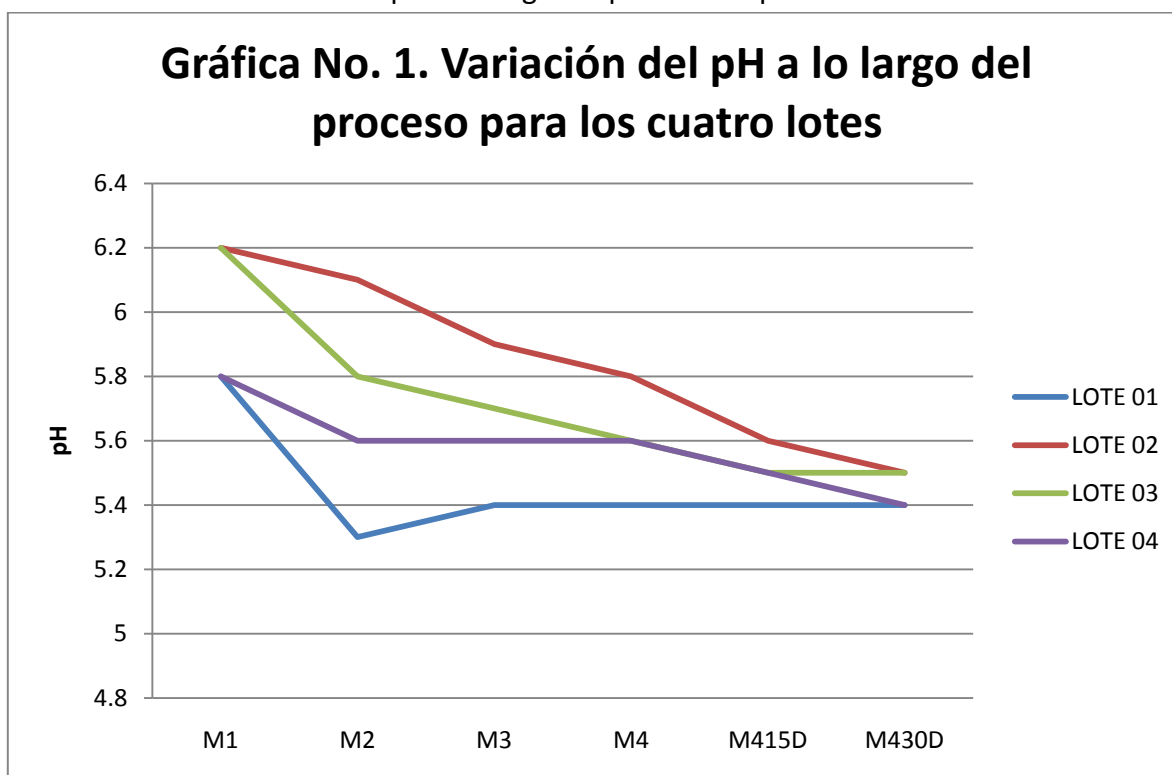
Tabla No. 6. Identificación de las muestras 32

<b>Nombre de la muestra</b>	<b>Etapas del proceso en donde fue tomada</b>
M1	Después del embutido
M2	Después del estufaje
M3	Después de la maduración
M4	Después de empaçado
M415D	Después de 15 días de almacenamiento
M430D	Después de 30 días de almacenamiento

Tabla No. 7. Valor del pH presentado en las muestras de los cuatro lotes.

MUESTRA	LOTE 01	LOTE 02	LOTE 03	LOTE 04
M1	5.8	6.2	6.2	5.8
M2	5.3	6.1	5.8	5.6
M3	5.4	5.9	5.7	5.6
M4	5.4	5.8	5.6	5.6
M415D	5.4	5.6	5.5	5.5
M430D	5.4	5.5	5.5	5.4

Gráfica No. 1. Valor del pH a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes.

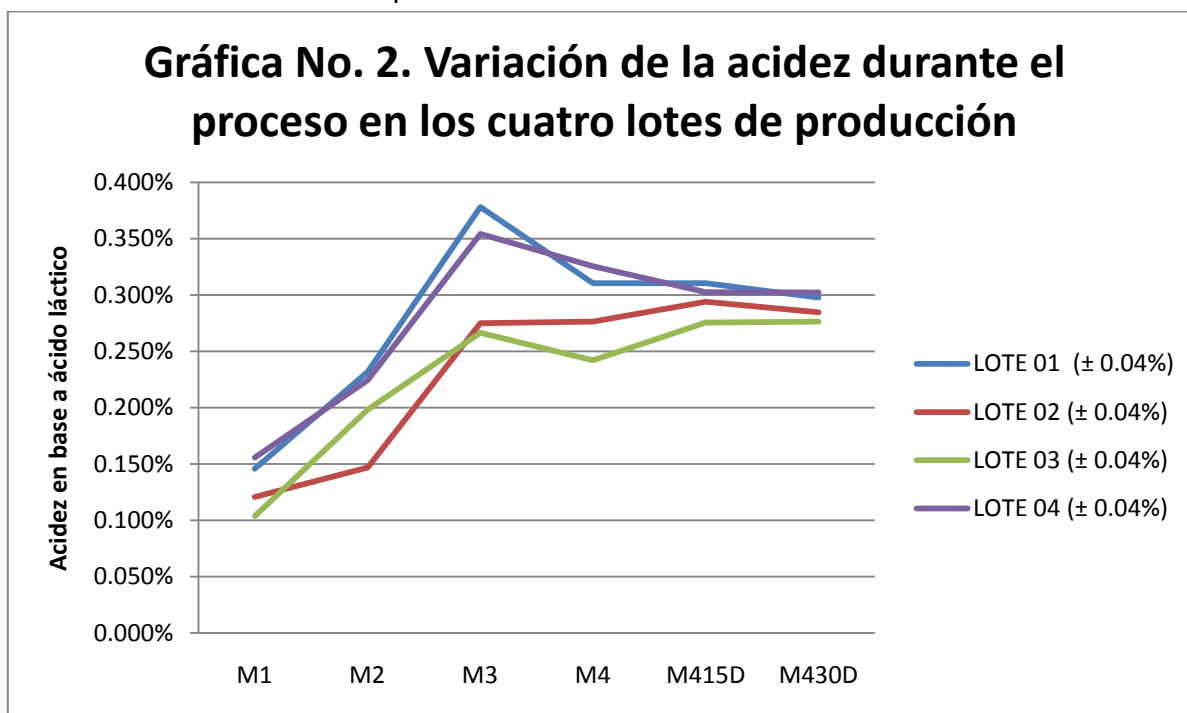


Se observa que hay una tendencia similar en el proceso, en los cuatro lotes de producción. Inicialmente el embutido tiene un pH casi de 6. Después con el proceso de estufaje, éste disminuye alcanzando un mínimo de 5.3. Posteriormente el pH disminuye lentamente debido a la lenta fermentación o se mantiene constante, debido a la disminución de la población microbiana.

Tabla No. 8. Porcentaje de acidez en base a ácido láctico determinado en las muestras de los cuatro lotes.

MUESTRA	LOTE 01 ( $\pm 0.04\%$ )	LOTE 02 ( $\pm 0.04\%$ )	LOTE 03 ( $\pm 0.04\%$ )	LOTE 04 ( $\pm 0.04\%$ )
M1	0.146%	0.138%	0.104%	0.164%
M2	0.232%	0.207%	0.198%	0.224%
M3	0.378%	0.275%	0.335%	0.354%
M4	0.310%	0.285%	0.285%	0.325%
M415D	0.310%	0.294%	0.275%	0.303%
M430D	0.298%	0.285%	0.276%	0.302%

Gráfica No. 2. Porcentaje de acidez con base a ácido láctico a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes.

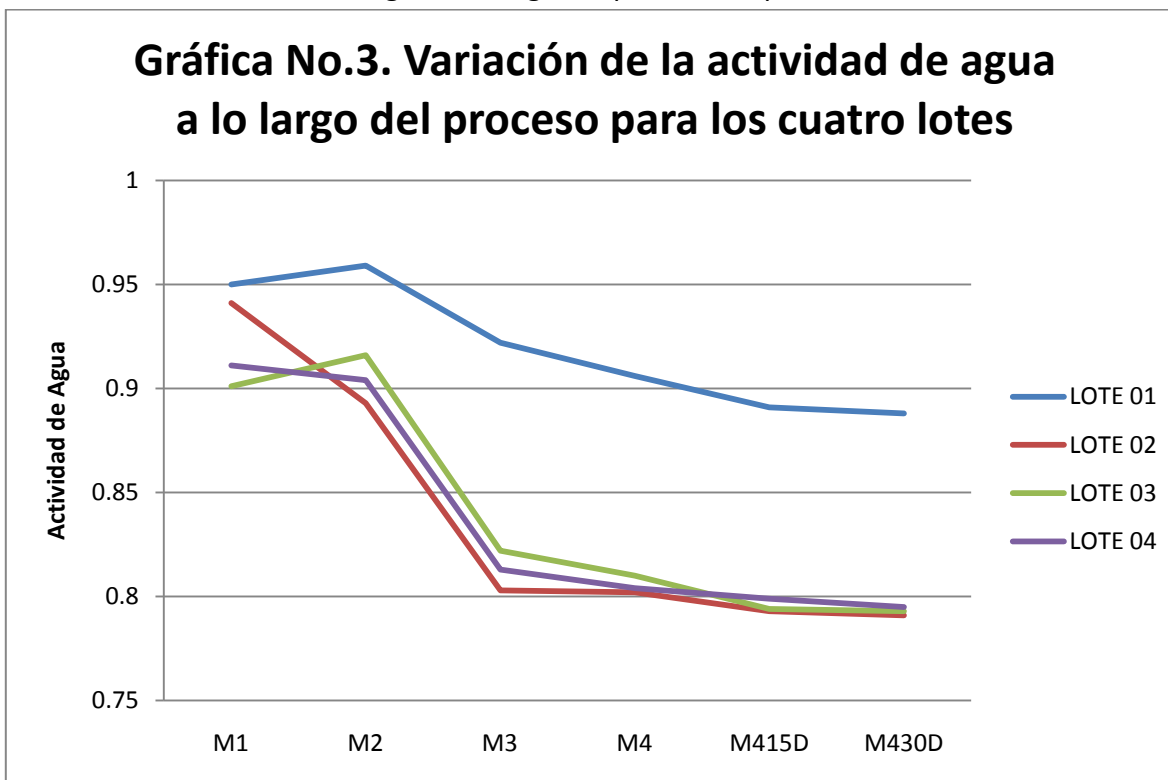


En este caso el porcentaje de acidez del embutido depende de la cantidad de ácido láctico presente. Se observa que después de la etapa de madurado, el embutido alcanza el valor máximo, mientras que este tiende a disminuir en las etapas posteriores durante el almacenamiento, lo cual se debe a la disminución que hay en la población microbiana durante las etapas respectivas. La variación en porcentaje realmente es muy baja, pero ésta diferencia puede llegar a ser significativa en el aroma y sabor del embutido.

Tabla No. 9. Actividad de agua en las muestras de los cuatro lotes.

MUESTRA	LOTE 01	LOTE 02	LOTE 03	LOTE 04
M1	0.95	0.941	0.901	0.911
M2	0.959	0.893	0.916	0.904
M3	0.922	0.803	0.822	0.813
M4	0.906	0.802	0.81	0.804
M415D	0.891	0.793	0.794	0.799
M430D	0.888	0.791	0.793	0.795

Gráfica No. 3. Actividad de agua a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes.

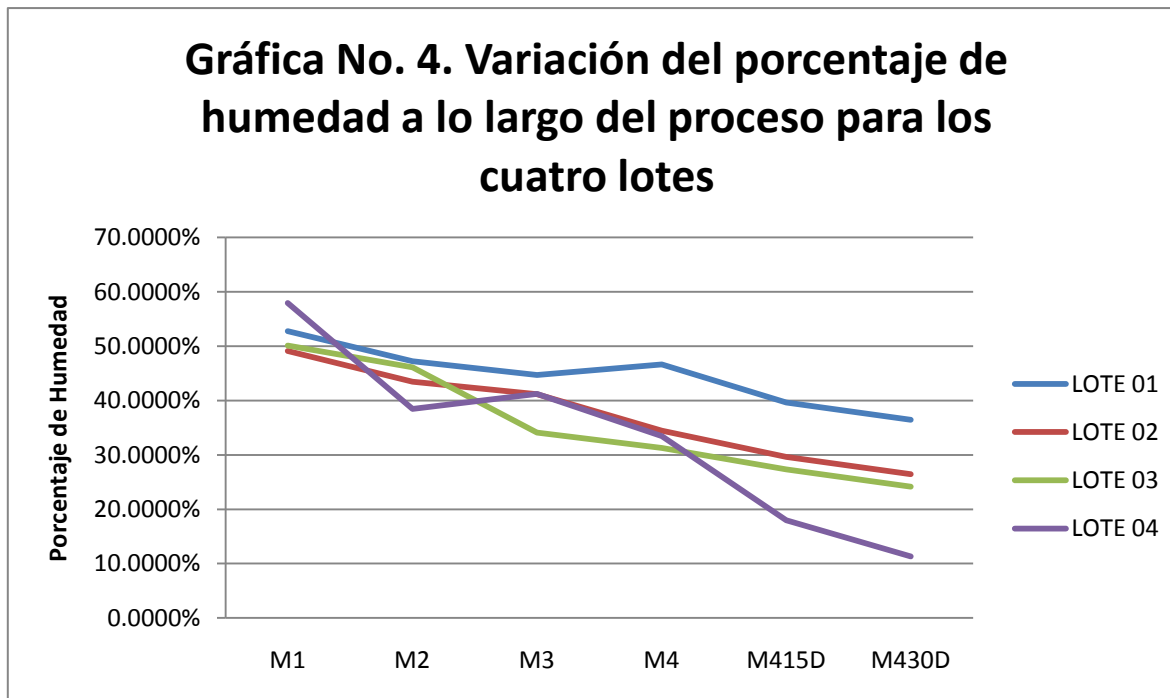


En este caso se observa un comportamiento similar en los cuatro lotes de producción. La actividad de agua disminuye gradualmente durante el proceso de producción y de almacenamiento. Sin embargo, se observa una diferencia significativa entre los valores del primer lote y de los últimos tres.

Tabla No. 10. Porcentaje de humedad en las muestras de los cuatro lotes.

MUESTRA	LOTE 01	LOTE 02	LOTE 03	LOTE 04
M1	52.7601%	49.1036%	50.1276%	57.9436%
M2	47.2398%	43.4259%	46.0925%	38.4621%
M3	44.6718%	41.1586%	34.0829%	41.2464%
M4	46.6260%	34.4273%	31.2478%	33.4672%
M415D	39.6137%	29.6135%	27.3142%	17.9648%
M430D	36.4729%	26.4479%	24.1471%	11.2949%

Gráfica No. 4. Porcentaje de humedad a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes.

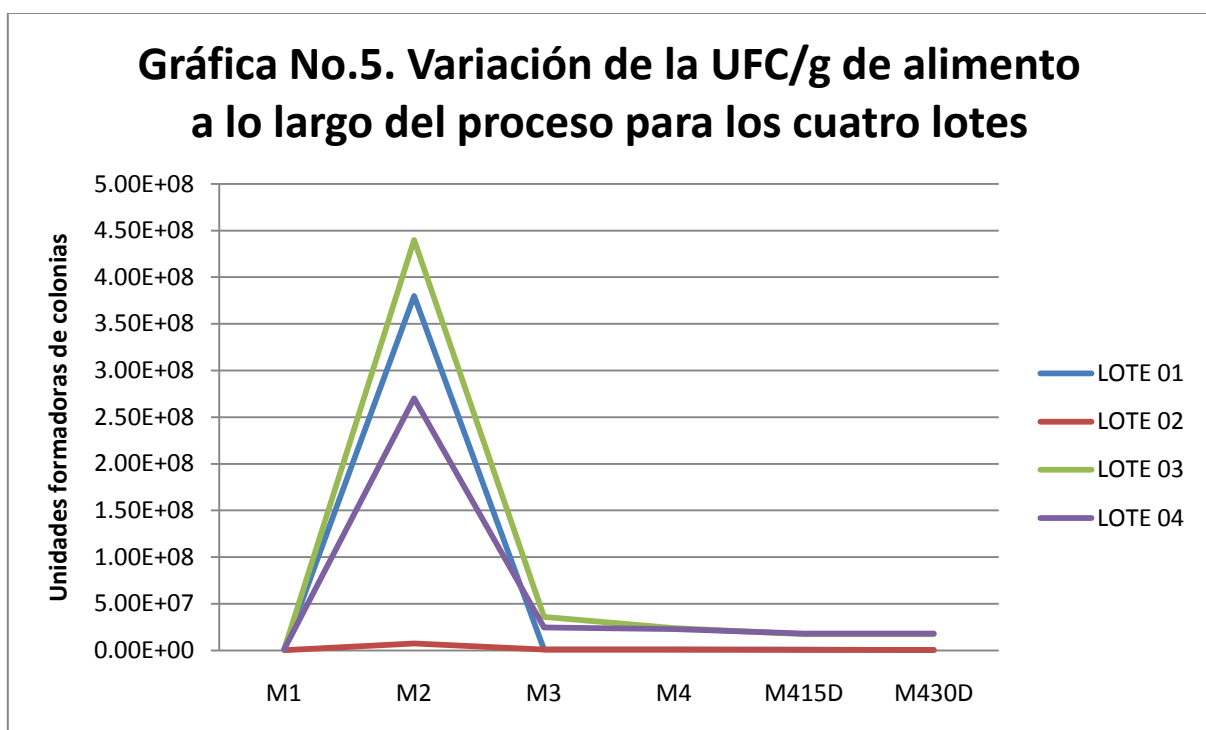


En este caso no se observa una tendencia similar en los lotes de producción. Lo único que hay en común es que el porcentaje de humedad disminuye en las diferentes etapas del proceso. Los lotes 01 y 04 presentan comportamiento inusuales, ya que hay un aumento del porcentaje de humedad en ciertas etapas del proceso.

Tabla No. 11. Unidades formadoras de colonias de microorganismos por gramo de alimento en las muestras (ufc/g de alimento) de los cuatro lotes.

MUESTRA	LOTE 01	LOTE 02	LOTE 03	LOTE 04
M1	8.20E+05	1.40E+05	9.60E+05	1.16E+06
M2	3.80E+08	7.40E+06	4.40E+08	2.70E+08
M3	1.10E+06	8.00E+05	3.60E+07	2.48E+07
M4	1.14E+06	8.60E+05	2.40E+07	2.28E+07
M415D	9.80E+05	7.00E+05	1.74E+07	1.80E+07
M430D	3.80E+05	6.40E+05	1.74E+07	1.80E+07

Gráfica No.5. Variación de la cantidad de ufc/g de alimento a lo largo del proceso de producción de los cuatro lotes.

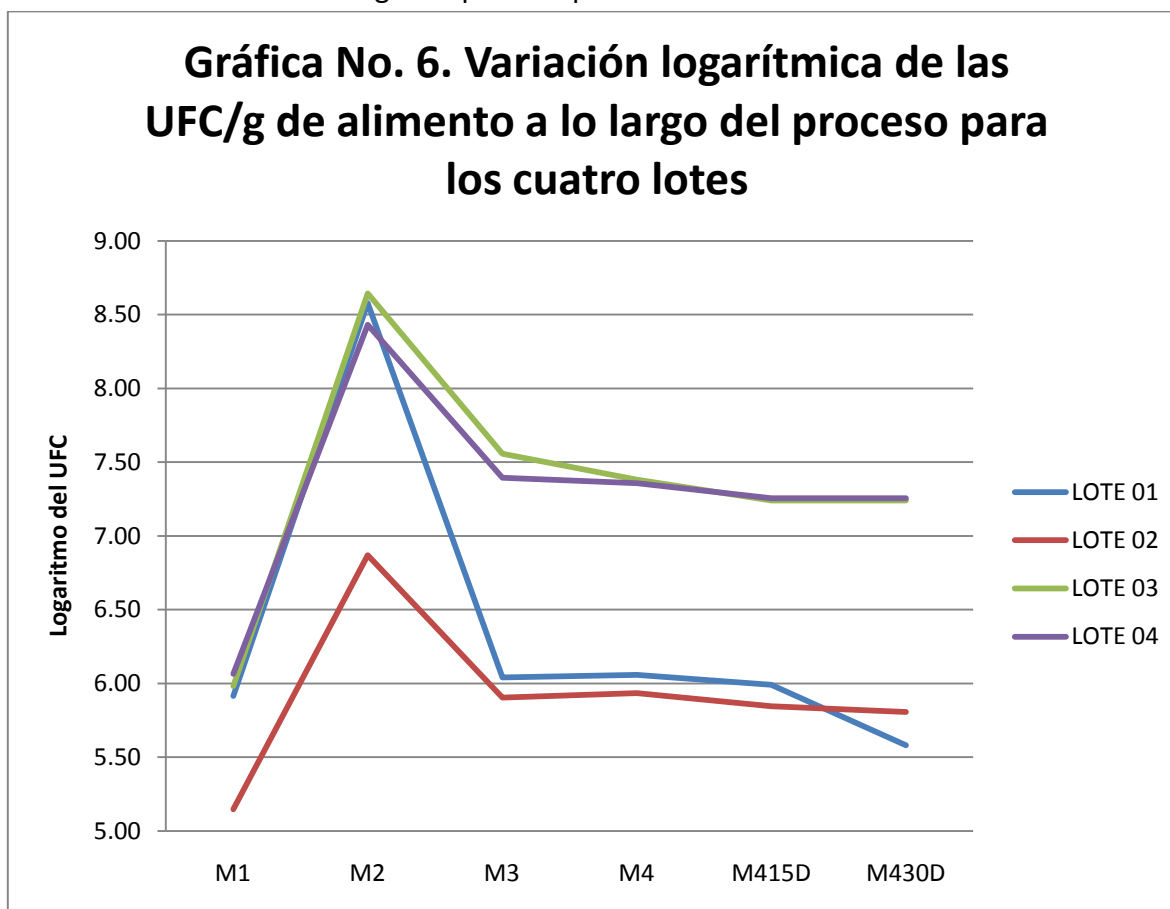


Puede observarse que hay un crecimiento muy elevado después del proceso del estufaje en los lotes 01, 03 y 04. El lote 02 muestra un comportamiento similar pero con valores mucho menores, en relación a los otros lotes. Para poder observar mejor la tendencia, se realizó un gráfico logarítmico que se presenta a continuación.

Tabla No. 12. Unidades formadoras de colonias (en escala logarítmica) en las muestras de los cuatro lotes.

MUESTRA	LOTE 01	LOTE 02	LOTE 03	LOTE 04
M1	5.91	5.15	5.98	6.78
M2	8.58	6.87	8.64	8.43
M3	6.04	5.90	7.56	7.39
M4	6.06	5.93	7.38	7.36
M415D	5.99	5.85	7.24	7.26
M430D	5.58	5.81	7.24	7.26

Gráfica No. 6. Variación logarítmica de las ufc/ g de alimento de microorganismos a lo largo del proceso para los cuatro lotes.



De nuevo se observa el mismo comportamiento, pero a una mejor escala.

- ANÁLISIS DEL PROCESO PRODUCTIVO Y DE ALMACENAMIENTO

Para poder analizar el proceso productivo y de almacenamiento, se realizará una comparación de cada etapa de producción y del comportamiento de cada una de las características medidas para cada lote (pH, porcentaje de acidez, actividad de agua, porcentaje de humedad y viabilidad de microorganismos probióticos presentes)

Las gráficas que se observan a continuación, presentan únicamente la variación del pH, de la actividad de agua y de la viabilidad de los microorganismos probióticos, ya que son las características más críticas en el proceso de fabricación.

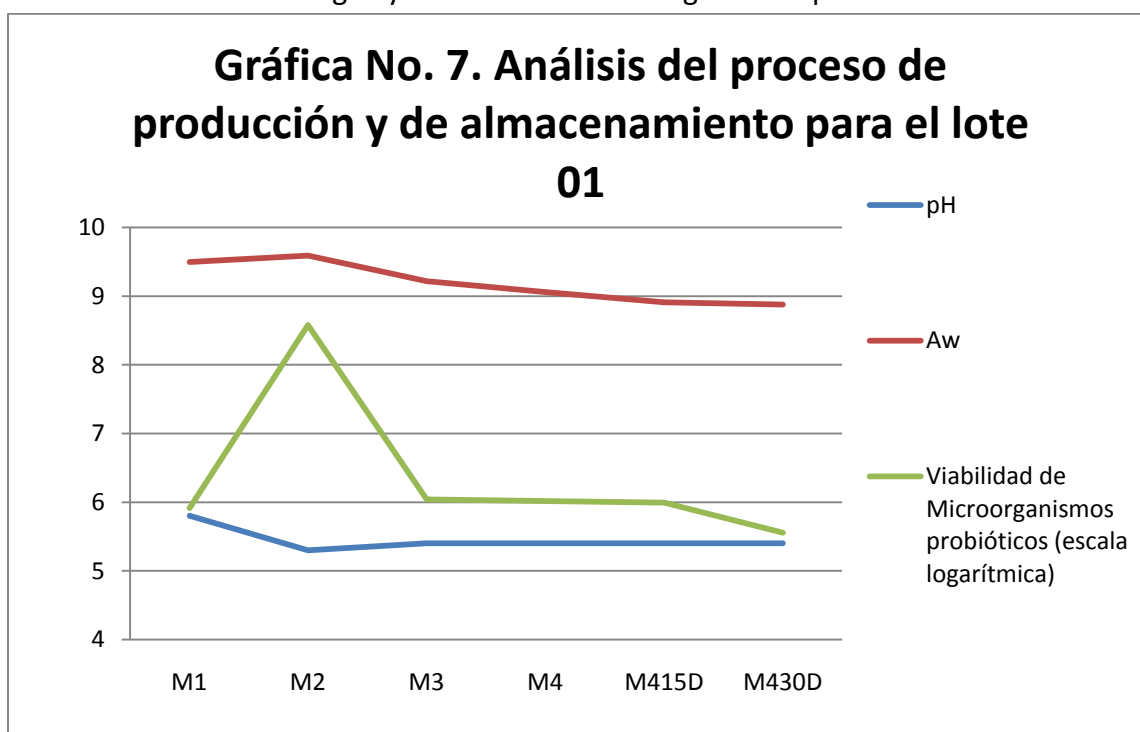
Para poder hacer una comparación gráfica fue necesario colocar todo en una misma escala, por lo que los valores de actividad de agua se multiplicaron por un factor de 10 y los valores de ufc se calcularon en escala logarítmica de base diez.

A continuación se presentan las tablas y las gráficas respectivas para cada lote de producción.

Tabla No. 13. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 01.

LOTE 01					
MUESTRA	pH	% de acidez ( $\pm$ 0.04%)	Aw	Humedad	Viabilidad de microorganismos probióticos (escala logarítmica)
M1	5.8	0.1457%	9.5	52.7601%	5.91
M2	5.3	0.2317%	9.59	47.2398%	8.58
M3	5.4	0.3780%	9.22	44.6718%	6.06
M4	5.4	0.3104%	9.06	46.6260%	6.02
M415D	5.4	0.3104%	8.91	39.6137%	5.99
M430D	5.4	0.2976%	8.88	36.4729%	5.58

Gráfica No. 7. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 01.

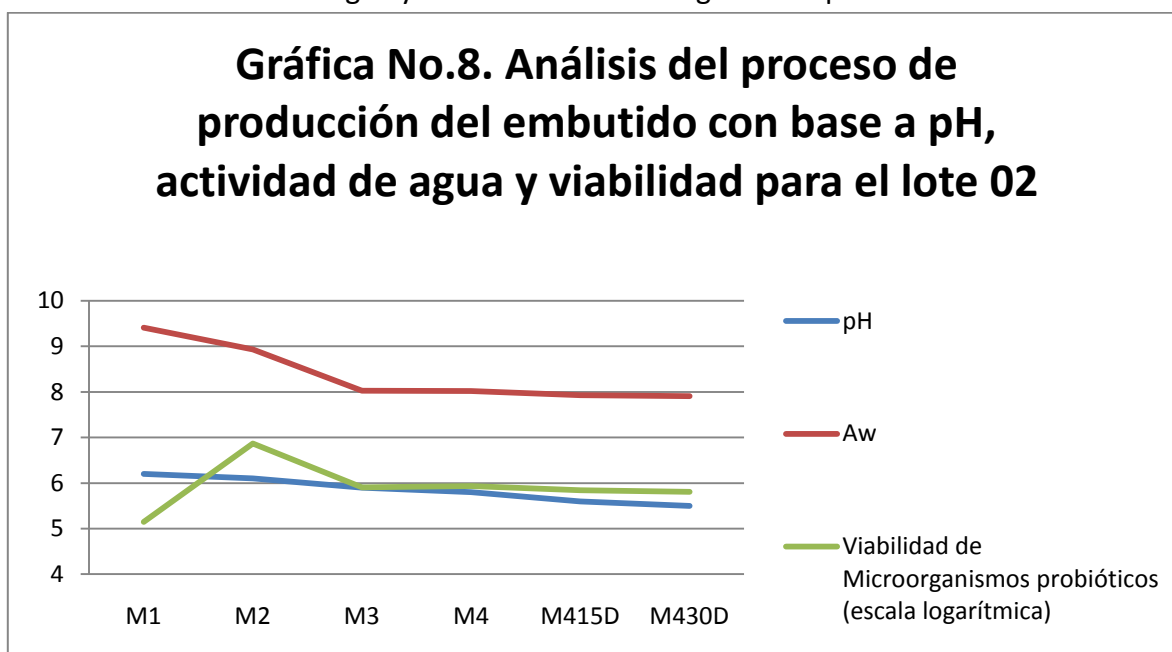


Se observa que en la etapa 2, después del estufaje hay un crecimiento de microorganismos, hay una baja en el pH del producto y hay un ligero aumento en el valor de la actividad de agua.

Tabla No. 14. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 02.

LOTE 02					
MUESTRA	pH	% de acidez ( $\pm$ 0.04%)	Aw	Humedad	Viabilidad de microorganismos probióticos (escala logarítmica)
M1	6.2	0.1206%	9.41	49.1036%	5.15
M2	6.1	0.1467%	8.93	43.4259%	6.87
M3	5.9	0.2749%	8.03	41.1586%	5.90
M4	5.8	0.2765%	8.02	34.4273%	5.93
M415D	5.6	0.2940%	7.93	29.6135%	5.85
M430D	5.5	0.2845%	7.91	26.4479%	5.81

Grafica No.8. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 02.

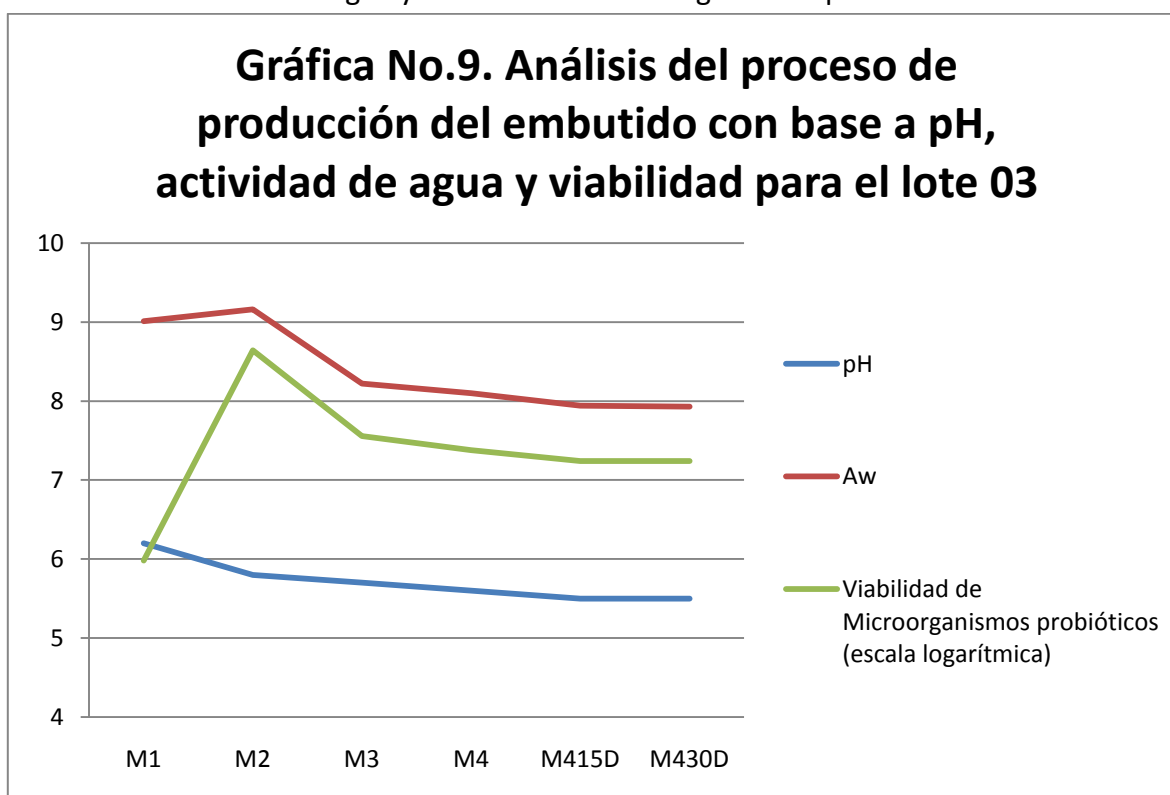


De nuevo se observa que después del estufaje hay un crecimiento de microorganismos, hay una baja en el pH del producto y hay una baja en el valor de la actividad de agua.

Tabla No. 15. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 03.

LOTE 03					
MUESTRA	pH	% de acidez ( $\pm$ 0.04%)	Aw	Humedad	Viabilidad de microorganismos probióticos (escala logarítmica)
M1	6.2	0.1036%	9.01	50.1276%	5.98
M2	5.8	0.1983%	9.16	46.0925%	8.64
M3	5.7	0.2665%	8.22	34.0829%	7.56
M4	5.6	0.2420%	8.1	31.2478%	7.38
M415D	5.5	0.2755%	7.94	27.3142%	7.24
M430D	5.5	0.2764%	7.93	24.1471%	7.24

Gráfica No.9. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 03.

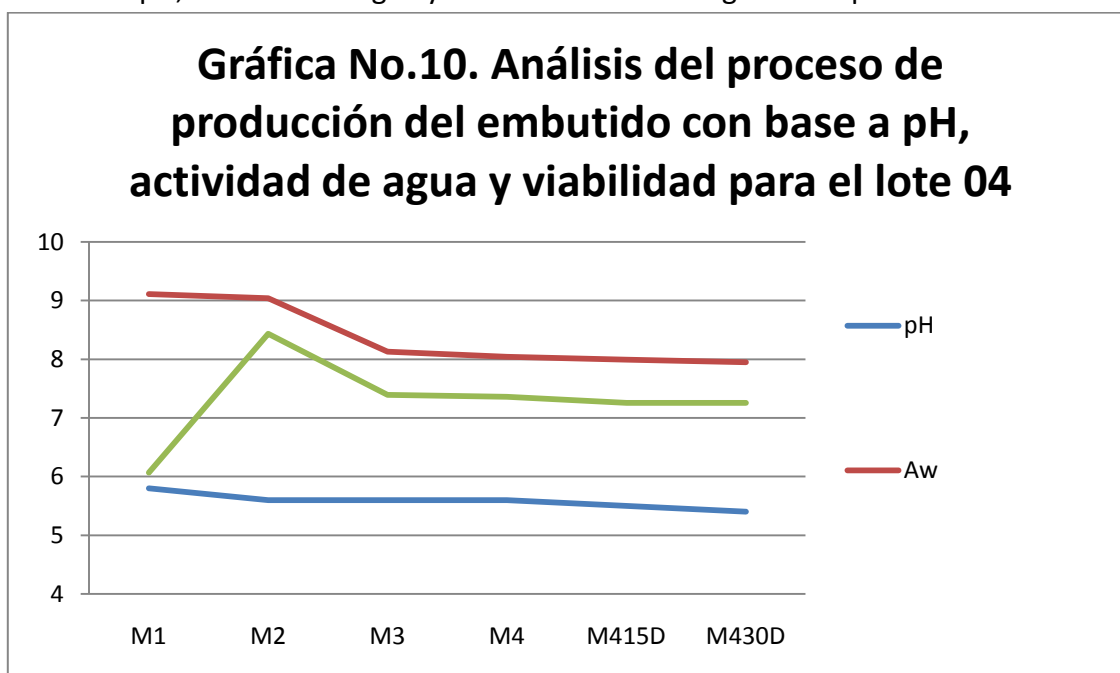


De nuevo se observa que después del estufaje hay un crecimiento de microorganismos, hay una baja en el pH del producto pero hay un aumento en el valor de la actividad de agua.

Tabla No. 16. Variación de las características medidas a lo largo del proceso del lote 04.

LOTE 04					
MUESTRA	pH	% de acidez ( $\pm$ 0.04%)	Aw	Humedad	Viabilidad de microorganismos probióticos (escala logarítmica)
M1	5.8	0.1556%	9.11	57.9436%	6.06
M2	5.6	0.2244%	9.04	38.4621%	8.43
M3	5.6	0.3541%	8.13	41.2464%	7.39
M4	5.6	0.3254%	8.04	33.4672%	7.36
M415D	5.5	0.3025%	7.99	17.9648%	7.26
M430D	5.4	0.3023%	7.95	11.2949%	7.26

Gráfica No.10. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para el lote 04.



Se observa que después del estufaje hay un crecimiento de microorganismos, hay una baja en el pH del producto y hay una baja en el valor de la actividad de agua.

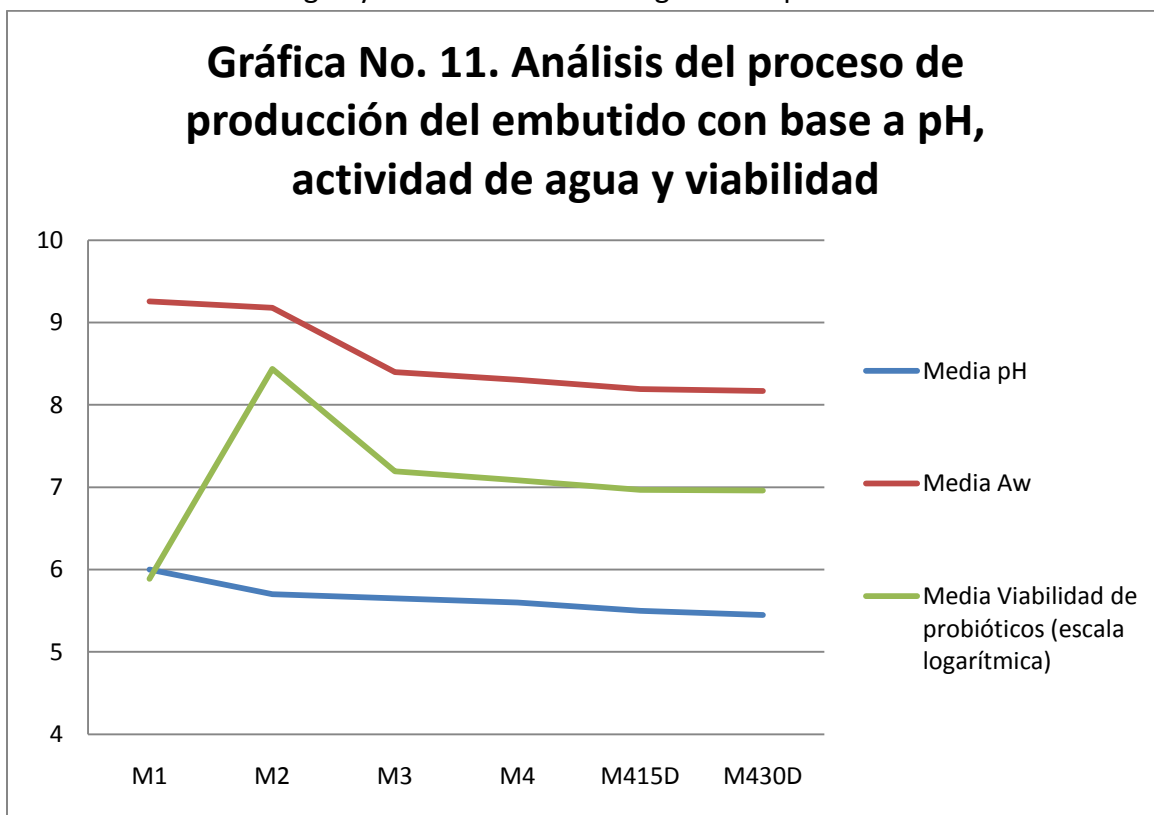
Tabla No. 17. Valores de media y desviación estándar para todas las pruebas realizadas.

<b>MUESTRA</b>	<b>Media pH</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Media % de acidez</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Media Aw</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Media Humedad</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Media Viabilidad de Microorganismos (UFC/g de microorganismos)</b>	<b>Desviación estándar</b>
<b>M1</b>	6	0.23094011	0.1314%	0.00023684	0.92575	0.023457408	52.4837%	0.03952349	7.70E+05	4.43E+05
<b>M2</b>	5.7	0.33665016	0.2003%	0.00038481	0.91800	0.028902134	43.8051%	0.03903879	2.74E+08	1.91E+08
<b>M3</b>	5.65	0.2081666	0.3184%	0.00056009	0.84000	0.055214732	40.2899%	0.04449623	1.57E+07	1.76E+07
<b>M4</b>	5.6	0.16329932	0.2885%	0.00037177	0.83050	0.050447993	36.4421%	0.06918623	1.22E+07	1.29E+07
<b>M415D</b>	5.5	0.08164966	0.2956%	0.00014988	0.81925	0.047905289	28.6266%	0.0888982	9.27E+06	9.74E+06
<b>M430D</b>	5.45	0.05773503	0.2902%	0.0001189	0.81675	0.047528062	24.5907%	0.1035392	9.11E+06	9.93E+06

Tabla No. 18. Análisis del proceso de producción del embutido con base a pH, actividad de agua y viabilidad para todos los lotes

MUESTRA	Media pH	Media Aw	Media viabilidad de probióticos (escala logarítmica)
M1	6	92.575	6.2967
M2	5.7	91.8	8.4383
M3	5.65	84	7.1952
M4	5.6	83.05	7.0864
M415D	5.5	81.925	6.9671
M430D	5.45	81.675	6.9593

Gráfica No. 11. Análisis del proceso de producción y de almacenamiento con base a pH, actividad de agua y viabilidad de microorganismos para todos los lotes.



En general en todos los procesos se observa que la viabilidad de los microorganismos aumenta después de la etapa de estufaje. Al mismo tiempo disminuye el pH debido a la producción de ácido láctico por parte de las bacterias acidolácticas. En esta etapa el embutido empieza a perder agua, por lo que la disponibilidad disminuye y por consiguiente la actividad de agua también decrece. Posteriormente se observa que la actividad de agua sigue disminuyendo, mientras que el pH disminuye lentamente hasta estabilizarse. Esto se debe a que durante las etapas posteriores del proceso, el embutido sigue perdiendo agua, y los microorganismos probióticos se siguen reproduciendo (aunque a menor razón) generando más ácido láctico.

Puede observarse que en general la actividad de agua, el pH y la viabilidad de microorganismos se estabiliza.

Tabla No.19. Porcentaje de sodio en el producto final

<b>Lote</b>	<b>% de Sodio <math>\pm</math> 0.002</b>
01	0.9274
02	0.9560
03	0.9331
04	1.1679
<b>Promedio</b>	<b>1.019 <math>\pm</math>0.1294</b>

## VII. DISCUSIONES

El objetivo principal de este trabajo fue determinar si los embutidos madurados tipo snack de salami pueden considerarse probióticos. Para esto se monitoreó la viabilidad de estos microorganismos durante todo el proceso de producción, incluso varias semanas después de finalizado el proceso. Adicionalmente también se determinaron algunas características fisicoquímicas del embutido como pH, porcentaje de acidez en base a ácido láctico, actividad de agua y porcentaje de humedad; con el fin de relacionar los cambios fisicoquímicos con los microbiológicos.

Se trabajó con un embutido de salami tipo snack, el cual tiene aproximadamente 10 centímetros de largo y de 1.5 a 2 cm de diámetro. Éste se produce semanalmente en un proceso por batch de 100 libras.

Se escogió el salami snack por varias razones: primero es un producto que recién acaba de ingresar al mercado guatemalteco y sus propiedades fisicoquímicas aún no estaban caracterizadas. Adicionalmente este producto presenta varias ventajas, ya que debido a su pequeño diámetro, el proceso de producción es bastante corto, una semana, en comparación a otros embutidos de diámetros más grandes, los cuales pueden llegar a tener procesos de maduración de hasta dos meses. La dificultad de un proceso demasiado largo radica en que no pueden analizarse tantos lotes; otra de las facilidades que presentó el salami snack, es que se pudieron evaluar cuatro lotes de producción.

La determinación de las etapas en donde se realizaría el muestreo a lo largo del proceso productivo y de las pruebas fisicoquímicas a realizar no fue una tarea fácil. Para esto se estudió cuidadosamente el proceso de producción del salami snack y se evaluaron y analizaron las etapas. Además también se analizó que cambios ocurrían de etapa a etapa

y si estos alteraban significativamente la población microbiana. De esta forma se llegó a la conclusión que era necesario determinar la cantidad de ufc inicial, después de que los cultivos iniciadores ya han sido inoculados o agregados. Inicialmente se pensó en muestrear la pasta antes de embutir, pero por facilidades del muestreo, se decidió por empezar después del embutido, ya que es imposible que ese proceso altere significativamente la cantidad de microorganismos. Otra de las etapas cruciales en el proceso son el estufaje y la maduración. Ambas etapas proveen condiciones de tiempo, temperatura y de humedad relativa muy diferentes por lo cual era imprescindible determinar cómo se verían afectados los microorganismos bajo estas condiciones.

Las pruebas fisicoquímicas realizadas, como el pH y la actividad de agua se escogieron ya que son análisis estándares imprescindibles para el control de calidad del embutido. Se decidió también determinar la acidez del embutido en base al ácido láctico, ya que es este ácido el cual se desarrollará durante la fermentación. Por último se agregó la humedad del embutido para conocer como varía la proporción del agua en la matriz a lo largo de todo el proceso productivo. Ya con esto, se prosiguió a realizar el muestreo durante el proceso de producción del embutido.

El proceso del salami snack es muy simple, pero que al mismo tiempo involucra ciertas condiciones de tiempo, temperatura y humedad relativa, las cuales son sumamente importantes para alcanzar un producto final con las características de calidad deseadas. El proceso inició con la selección de la materia prima, la cual fue de calidad excelente. La carne utilizada en este proceso no presentó características de PSE (pálida, suave y exudativa) ni de DDF (oscura, firme y seca), además su pH estuvo en un rango entre de 5.8 y 6.2. Después de la carne, la materia prima esencial fue la grasa, el ácido ascórbico y los cultivos iniciadores o “starters”, de los cuales los utilizados en este proceso fueron el *Pediococcus pentosaceus* y *Staphylococcus xylosum*.

El siguiente paso clave en el proceso fue el picado de la materia prima, el cual se realizó a temperaturas por debajo de los 2°C. Fue muy importante que en esta etapa no se presionara excesivamente la carne, pues daría como resultado un embutido “embarrado” el cual presenta problemas durante el estufaje y la maduración con respecto a la textura. Posteriormente se prosiguió a la mezcla de la materia prima en la mezcladora al vacío y a la homogenización de partícula, siempre cuidando que la temperatura no excediera los 4°C. Es en este punto en donde se agregan los microorganismos liofilizados, los cuales se reconstituyen únicamente con agua. Ya con la pasta fría se prosiguió a embutirla al vacío en una tripa sintética. Fue después de esta etapa en donde se tomó la primera muestra, la cual indica la cantidad inicial de microorganismos probióticos presentes en los embutidos.

Se prosiguió a colocar los embutidos en el cuarto de estufaje por un poco más de 24 horas. Este cuarto tiene una temperatura de aproximadamente 25°C y una humedad relativa mayor a 92%. Esto con el fin de proveer las condiciones óptimas de crecimiento de los cultivos iniciadores. De esta forma, éstos actuaron, degradando los azúcares presentes y generando los ácidos característicos de los embutidos fermentados, dentro de los cuales se encuentra el ácido láctico. Fue en este punto en donde se tomó la segunda muestra.

Posteriormente los embutidos fueron llevados al cuarto de maduración en donde la temperatura máxima es de 18°C y la humedad relativa es menor al 80%, en este cuarto permanecieron los embutidos por 24 horas. Al finalizar esta etapa, se tomó la tercera muestra durante el proceso.

Después de los procesos de fermentación, durante los cuales se obtuvieron las características deseadas del producto, fue necesario inactivar a las bacterias acidolácticas por medio de calor en horno por una hora. Esto es de suma importancia, ya que de no ser así, el embutido se sigue fermentando y sigue generando ácido láctico, el cual además de darle un muy mal sabor al embutido también puede alterar las características de aroma y textura.

Por último, se empacó el embutido y se tomó la última muestra del proceso. Todas las muestras a excepción de la última muestra, fueron congeladas inmediatamente después de haber sido tomadas. Fue muy importante mantener la cadena de congelación de las muestras, para no alterar la cantidad de la población microbiana, y así obtener resultados más reales.

Los análisis fisicoquímicos de todas las muestras se realizaron de forma rápida y práctica ya que se contó con un medidor de actividad de agua, un potenciómetro para medir el pH y una balanza de humedad.

Los valores de pH obtenidos en los cuatro lotes de producción presentaron una tendencia, bastante similar (ver Tabla No.7 y Gráfica No.1 en la sección de Resultados). Inicialmente el embutido tiene un pH de 6, el cual disminuye lentamente durante el proceso de producción. Para los lotes 01, 03 y 04 se observa una caída del pH significativa después del proceso de estufaje, esto porque esta etapa proporciona las características de temperatura y humedad relativa ideales para el microorganismo. Posteriormente se observa que el pH disminuye gradualmente o se mantiene constante. Esto se debe en gran parte a que las condiciones de temperatura y humedad relativa cambian, y la velocidad de crecimiento de los microorganismos disminuye, por lo que la producción de ácido láctico también disminuye, provocando que el cambio sea muy lento o que el cambio no sea significativo dando lugar a que el pH se mantenga constante.

Es interesante notar que el pH inicial de los lotes 02 y 03 fue de 6.2, lo cual indica que existe una falta de control en el proceso. En este caso es posible que el pH de la materia prima fuera más alto. Lo más destacable, es que a pesar de un pH alto al inicio, el producto terminado logra alcanzar el pH deseado, esto indica que durante el proceso de estufaje y de maduración las bacterias acidolácticas logran acidificar el medio, hasta alcanzar un valor de pH final de entre 5.4 y 5.5. Esto puede lograrse si los tiempos de

estufaje y de maduración se aumentan, con el fin del alcanzar el pH deseado. Sin embargo, esto puede presentar complicaciones en cuanto a la textura final del embutido, la cual por estar más tiempo expuesta al ambiente, consecuentemente pierde más agua y es más dura. También podría inferirse que el pH final del producto proporciona condiciones adversas para el buen desarrollo de los microorganismos por lo que éstos dejan de producir ácido láctico. Puede concluirse entonces que el producto de la fermentación, el ácido láctico, representa una limitante para el desarrollo de los microorganismos probióticos.

Se calculó el valor promedio del pH y su desviación estándar, con el fin de determinar la dispersión de los valores. Se observó en general que los valores de pH durante el proceso de producción de los cuatro lotes fueron muy similares, lo cual se demuestra con los bajos valores de desviación estándar obtenidos (ver Tabla No. 17 en la sección de Resultados)

Por otro lado, también se analizó el porcentaje de acidez en base a la cantidad de ácido láctico presente en el embutido. Se escogió este ácido, ya que como se mencionó inicialmente, éste es subproducto de la fermentación, entonces es un buen indicador de la variación de la cantidad de ácido láctico presente e indirectamente es un indicador de la cantidad de microorganismos probióticos presentes.

En este caso se observó un aumento constante en las primeras tres etapas, es después de la etapa de maduración que el producto alcanza el mayor porcentaje de acidez (ver Tabla No.8 y gráfica No.2 en la sección de Resultados). Esto se contradice un poco con los resultados del pH, ya que se observa que el pH mínimo es después de la etapa de estufaje. Sin embargo debe recordarse que el pH es un indicador de la cantidad de iones de hidronio presentes en la matriz alimentaria, mientras que la acidez se refiere únicamente a la presencia de un ácido específico, dejando de considerarse otros ácidos presentes como el ácido pirúvico y el ácido ascórbico. La diferencia puede deberse en gran

parte a que la cantidad máxima de ácido láctico se alcanza hasta después de la etapa de maduración, mientras que el pH más bajo del embutido se alcanza después de la etapa de estufaje.

Es de destacar que después de la etapa de maduración, tanto el pH como el porcentaje de acidez disminuyen gradualmente. Esto se debe a que en esta parte del proceso, el desarrollo microbiano ya se encuentra en la fase de decaimiento, debido a la falta de sustratos o azúcares. Adicionalmente a esto, la matriz alimentaria pasa por un horno a 45°C lo cual es una condición adversa que consecuentemente reduce la población microbiana. Esto permite que el embutido se estabilice, y que los microorganismos no sigan reproduciendo y generando más ácido láctico, lo cual puede alterar significativamente las características sensoriales del embutido.

El valor promedio y la desviación estándar del porcentaje de acidez demuestran que esta característica fisicoquímica se comporta de forma similar en todas las muestras de los cuatro lotes analizados (ver Tabla No. 17 en la sección de Resultados).

Otra característica evaluada fue la actividad de agua. Por la teoría se sabe que el valor de actividad de agua de un embutido madurado oscila entre 0.85 y 0.93. En este caso, el único lote que cumple con esto es el 01, mientras que los lotes 02, 03 y 04 presentan valores de actividad de agua significativamente menores (ver Tabla No.9 y Gráfica No.3 en la sección de Resultados). Esto se debe en gran parte al pH inicial de la pasta de cada lote, el cual fue muy alto para estos tres últimos lotes. Como ya se mencionó, para lograr las condiciones deseadas de sabor y aroma, es necesario que el pH disminuya y para lograr esto, se necesita que las etapas de estufaje y maduración sean más largas, de tal forma que aumenta el tiempo de exposición del embutido al ambiente y por consiguiente aumenta la cantidad de agua perdida. Esto puede observarse también en el porcentaje de humedad (ver Tabla No.10 y Gráfica No.4 en la sección de Resultados). Inicialmente la muestra 01 de cada lote tiene un porcentaje de humedad similar. Sin embargo en los lotes 02, 03 y 04 tanto después de la etapa de estufaje, como de la etapa de maduración se

observa un valor de porcentaje de humedad significativamente menor con respecto a los valores del lote 01.

De nuevo los valores del promedio y desviación estándar de la actividad de agua demuestran que esta característica está bajo control (ver Tabla No. 17 en la sección de Resultados).

Es importante mencionar que la determinación de la humedad presentó un problema; los resultados presentaron mucha variación al realizar el duplicado e incluso triplicado de las muestras. Esto se debió en su gran mayoría a que la matriz del embutido es una masa heterogénea a base de carne y grasa. Esto implicó, que a pesar de tomar muestras iguales de 5 g, la humedad variara mucho dependiendo de la proporción de grasa y carne. Las muestras con mayor proporción de carne, presentaron un porcentaje de humedad mayor, mientras que las muestras con mayor proporción de grasa presentaron un porcentaje de humedad menor.

Las pruebas microbiológicas se realizaron de forma paralela con las pruebas fisicoquímicas, esto con el fin de poder encontrar una relación ya sea directa o indirectamente proporcional entre la viabilidad de los microorganismos probióticos y las propiedades fisicoquímicas medidas.

Con respecto al desarrollo de los microorganismos probióticos en el embutido, se observó una tendencia similar en los cuatro lotes de producción (ver Tablas No.11 y No.12. y Gráfica No.5 y No.6 en la sección de Resultados). La población alcanza su máximo después de la etapa de estufaje, lo cual concuerda con la teoría que indica que esta etapa provee las condiciones de temperatura y humedad relativa ideal para los microorganismos. Se observa que la población microbiana disminuye después de la etapa mencionada y se estabiliza después de ser empacado.

De los cuatro lotes evaluados, el lote 02 presenta los valores más bajos en todo el proceso. Desde el inicio se observa que tiene una población microbiana significativamente menor a los lotes 01, 03 y 04. Esto puede deberse de nuevo a una falta de control en el proceso, ya que la población inicial de microorganismos depende en su mayoría de la cantidad de los mismos agregados inicialmente a la pasta. Entonces puede inferirse que a este lote se le agregó menos cantidad de bacterias liofilizadas.

Para analizar la relación de las características fisicoquímicas con la viabilidad de los microorganismos probióticos, se hizo un análisis de la variación de las propiedades para cada lote de producción (ver Tablas No.13, No.14, No.15 y No.16 y Gráfica No.7, No.8, No.9 y N.10 en la sección de Resultados). En todos los lotes se observa que un aumento en la cantidad de microorganismos representa un aumento del porcentaje de acidez y una baja en el pH, lo cual indica que la viabilidad es directamente proporcional al porcentaje de acidez pero indirectamente proporcional al pH.

Con respecto a la actividad de agua y el porcentaje de humedad, se observa que a mayor valor de actividad de agua y mayor porcentaje de humedad, mayor es la población microbiana, lo cual se da después de la etapa de estufaje. También se observa que a menor valor de actividad de agua y a menor porcentaje de humedad, menor es la cantidad de microorganismos presentes en el embutido, lo cual se da después de la etapa de empaque y después del almacenamiento. Se concluye entonces que la actividad de agua y el porcentaje de humedad son directamente proporcionales a la viabilidad de los microorganismos.

Por último, el objetivo principal de este trabajo, además de encontrar una correlación entre las características fisicoquímicas y el crecimiento microbiano del embutido, fue determinar si este alimento puede ser considerado probiótico. La teoría establece que para que un alimento esté en esta categoría, el número de ufc/g de alimento de microorganismos debe ser mayor a  $10^6$ .

Como puede observarse en la sección de Resultados, hubo variaciones significativas en cuanto a la población microbiana en los embutidos terminados. En este caso el lote 02, no alcanzó el valor deseado de  $10^6$  ufc/g de alimento de microorganismos. Sin embargo, los lotes 01, 03 y 04 presentaron valores superiores a  $10^6$  ufc/g de alimento de microorganismos. Por esta razón se decidió realizar un valor promedio de estos valores para determinar si el embutido puede considerarse probiótico (ver Tablas No.17, No.18, y Gráfica No.11 en la sección de Resultados). Con los valores promedios calculados, se observa que el embutido recién producido, después de 15 días y después de 30 días de producción, presenta valores de población microbiana mayores a  $10^6$  / g de alimento por lo que puede considerarse un alimento probiótico. Sin embargo, se resalta que este promedio no tiene una significancia estadística, y al mismo tiempo se recomienda realizar un estudio más profundo, con mayor número de muestras (más de 50 lotes) para poder determinar y asegurar con un intervalo de confianza que el embutido tipo snack puede ser considerado probiótico. Además los valores de desviación estándar calculados para la viabilidad de probióticos demuestran que existe una gran variación entre las muestras tomadas a lo largo del proceso. Como ejemplo se menciona el valor promedio y la desviación estándar para la muestra 1, el cual es de  $7.70 \times 10^5 \pm 4.43 \times 10^5$  ufc/g de alimento de microorganismos. En general para todas las muestras tomadas se observan valores de desviación estándar de esa magnitud. Esto confirma de nuevo que hay una gran discrepancia en el proceso de producción del embutido tipo snack y que es necesario estandarizar el proceso para que estas brechas sean lo más estrechas posibles y para obtener productos estandarizados.

Adicionalmente cabe destacar que los quince y treinta días después de empacado el producto no representan exactamente quince y treinta días después de que el producto sale del cuarto de maduración. En este caso no se está tomando el tiempo de almacenamiento en bodega en la planta, el cual es variable. Esto puede ser una de las causas por la cuales los valores entre las muestras finales sean tan diferentes. Se

recomienda mejorarlo en estudios posteriores, realizando los análisis exactamente quince y treinta días después de que el embutido sale del cuarto de maduración.

Con base a los valores del promedio y a la desviación estándar de todas las muestras en todos los lotes de producción (ver Tabla No. 17 en la sección de Resultados), se pudo observar que las fluctuaciones que ocurrieron a lo largo del proceso de producción no alteran significativamente las características fisicoquímicas, pero si alteran las microbiológicas. Debido a esto se recomienda evaluar si las propiedades sensoriales se ven afectadas significativamente.

Como análisis adicional se determinó el porcentaje de sodio en el producto final. Esto con el fin de evaluar si no hay una contraindicación al recomendar el consumo del producto como alimento probiótico. Se determinó que en promedio el embutido tiene un valor de  $1.019 \pm 0.1294\%$ . Esto equivale a 1019 mg de sodio por 100 gramo de embutido, lo cual es un valor relativamente alto, considerando que el valor recomendado de ingesta diaria de sodio es de 2300mg al día. Esto es necesario de recalcar e indicar a los consumidores, ya que si bien es cierto que el alimento es un probiótico y tiene un beneficio más allá de la salud, su consumo diario puede traer problemas por un alto consumo de sodio, además que es un producto que puede causar daño a los pacientes hipertensos.

Por último puede concluirse que el embutido tipo snack de salami, sí entra dentro de la categoría de alimentos probióticos, ya que cumple con el mínimo de  $10^6$  ufc/g de alimento de microorganismos después de empaque y después de los 30 días de almacenamiento. Para intereses de la empresa productora de estos embutidos, su producto puede ser comercializado como probiótico. Promocionar este embutido como tal quedará a criterio de la empresa, ya que también deberá considerarse la cantidad de sodio que éste contiene. Será ésta quien decida si vale la pena promocionar su producto como un alimento funcional con características que van más allá de la salud.

## VIII. CONCLUSIONES

Se determinó la viabilidad de los probióticos en los embutidos madurados a lo largo del proceso y se concluyó que este producto cumple con el mínimo requerido de  $10^6$  ufc/g de alimento de microorganismos, por lo que puede considerarse y comercializarse como un alimento probiótico.

Durante el proceso de fabricación se observó un aumento significativo de la cantidad de microorganismos después de la etapa de estufaje y un descenso paulatino en las etapas posteriores, siendo el almacenamiento prolongado la etapa que más afecta la viabilidad de los microorganismos.

Se determinó que la viabilidad de microorganismos probióticos es directamente proporcional al porcentaje de acidez, a la actividad de agua y al porcentaje de humedad pero indirectamente proporcional al pH.

Adicionalmente se determinó que al mismo tiempo que el embutido es probiótico y tiene un beneficio más allá de la salud, su consumo diario, puede causar daño debido al alto porcentaje de sodio que éste contiene, el cual representa aproximadamente el 50% del consumo diario de sodio en una dieta normal.

## IX. RECOMENDACIONES

Primero se recomienda a la empresa fabricante de embutidos estandarizar el proceso de producción del embutido, con el fin de obtener productos más homogéneos y con características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales similares.

También se recomienda a la empresa fabricante de embutidos realizar más análisis para asegurar estadísticamente y con un intervalo de confianza significativo, que sus embutidos tipo snack pueden ser considerados probióticos. Dentro de este análisis se recomienda realizar el muestreo exactamente quince días y treinta días después de que el producto sale de la cámara de maduración. Adicionalmente se recomienda a la empresa reducir los tiempos de almacenamiento en bodega antes de empacar el producto y agilizar su proceso de distribución para asegurar que el producto que llega al consumidor aún tiene la cantidad de microorganismos deseada. Dentro del análisis también se recomienda determinar la estabilidad de las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del embutido a períodos de tiempo más largos. Esto porque la vida de anaquel del producto esperada es de 6 meses.

Si el producto se comercializa como probiótico, se sugiere a la empresa ser sumamente cuidadosa con el tipo de publicidad que se haga y que en ésta se tome en cuenta el porcentaje de sodio del producto.

Para que el producto ofrezca mayores beneficios a la salud, se recomienda disminuir las cantidades de sales presentes en el embutido con el fin de disminuir los porcentajes de sodio. Adicionalmente a esto, se sugiere analizar en estudios posteriores la cantidad total de grasa del mismo con el fin de determinar el porcentaje que este representa en una dieta basada en 2000 calorías.

Por último se recomienda que en estudios posteriores se analice la calidad microbiológica del embutido. Si bien es cierto, que los valores de actividad de agua y de pH alcanzados en el producto final, no permiten que microorganismos patógenos se desarrollen, es importante demostrar que los embutidos no contienen estos microorganismos y que las condiciones del proceso se controlan adecuadamente para que éstos no se desarrollen.

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Ammor, M. S., Mayo, B. *Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update.* Meat Science, 76, 138–146. 2007.
2. Arihara, K. *Strategies for designing novel functional meat products.* Meat Science, 74, 219–229. 2006.
3. Aso Y, Akazan H, Kotake T, Tsukamoto T, Imai K. BLP Study Group. *Preventive effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a doubleblind trial.* Eur Urol 1995; 27: 104-109.
4. Champagne CP, Gardner NJ, Roy D. *Challenges in the addition of probiotic cultures to foods.* Crit Rev Food Sci Nutr 2005, 45:61-84.
5. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. *Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in mixed bacterial populations.* Int J Food Microbiol.1997; 35: 1-27.
6. De Roos NM, Katan MB. *Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998.* Am J Clin Nutr 2000; 71: 405-411.
7. De Vuist L., et al. *Probiotics in fermented sausages.* Research Group of Industrial Microbiology and Food Biotechnology (IMDO), Department of Applied Biological Sciences and Engineering, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Pleinlaan 2, B-1050 Brussels, Belgium. 2008.
8. Diplock AT, Agget PJ, Ashwell M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid MB. *Scientific concepts of functional foods in Europe.* Consensus document. Br J Nutr 1999; 81: S1-S27.

9. Doron S., Gorbach SL.. *Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy*. Clin Infect Dis. 2001 Jun 1;32(11):1567-76. Epub 2001 May 4.
10. Doron S., Gorbach SL.. *Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease*. Expert Rev Anti Infect Ther. 2006 Apr;4(2):261-75.
11. Erkkilä, S., & Petäjä, E. *Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use*. Meat Science, 55, 297–300. 2000.
12. Essien E. *Fabricación de embutidos, principios y práctica*. Acribia. España. 2005
13. Huebner ES., Surawicz CM. *Probiotics in the prevention and treatment of gastrointestinal infections*. Gastroenterol Clin North Am. 2006 Jun;35(2):355-65.
14. Fuller R. *Probiotics in human medicine*. Gut 1991; 32: 439-442.
15. Isolauri E, da Costa H, Gibson G *et al*. *Working Group on Functional Foods and Probiotics*. Boston, 2000; 75-81.
16. Isolauri E, Majamaa H, Arvola T, Ranmala I, Virtanen E, Arvilommi H. *Lactobacillus casei strain GG reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats*. Gastroenterology 1993; 105: 1.643-1.650.
17. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. *Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human lactobacillus strain*. Pediatr Res 1992; 32: 141-144.
18. Klingberg, T. Axelsson, L. *et al*. *Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages*. International Journal of Food Microbiology, 105, 419–431. 2005.
19. Klingberg, T., Budde, B. *The survival and persistence in the human gastrointestinal tract of five potential probiotic lactobacilli consumed as freeze-dried cultures or as probiotic sausage*. International Journal of Food Microbiology, 109, 157–159. 2006.

20. Lorente, B. Dalmau, J. *Alimentos funcionales: Probióticos*. Centro Atención Primaria de Alaquás. Valencia. Sección Nutrición. Hospital Infantil «La Fe». Valencia. *Acta Pediatr Esp* 2001; 59: 150-155
21. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. *Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 333-339.
22. Marteau P, Pochart P, Flourié B *et al*. *Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum on metabolic activities of the colonic microflora*. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 685-688.
23. Mattila-Sandholm T, Myllarinen P, Crittenden R, Mogensen G, Fonden R, Saarela M. *Technological challenges for future probiotic foods*. *Int Dairy J* 2002, 12:173-182.
24. Mercenier, A., Pavan, S. *et al*. *Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects*. *Current Pharmaceutical Design*, 9, 175–191. 2003.
25. Muthukumarasamy, P., Holley, R. *Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111, 164–169. 2006.
26. Nieto A. *Prevención primaria de la alergia alimentaria –probióticos– tolerancia oral*. *An Esp Pediatr* 1999; s126: 31-34.
27. No-Seong K., Jukes, DJ. *Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept*. School of Food Biosciences, University of Reading, Whiteknights, P.O. Box 226, Reading RG6 6AP, UK. 1998.
28. Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Kotzekidou, P. *Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties*. *Meat Science*, 65, 859–867. 2003.
29. Saavedra JM. *Microbes to fight microbes: A not so novel approach to controlling diarrheal disease*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 125-129.
30. Sameshima, T., Magome, C., Takeshita, K., Arihara, K., Itoh, M., & Kondo, Y. *Effect of intestinal Lactobacillus starter cultures on the behaviour of Staphylococcus*

- aureus in fermented sausage*. International Journal of Food Microbiology, 41, 1–7. 1998.
31. Shah N.P. Probiotic Bacteria: *Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods*. Journal of Dairy Science Vol. 83 No. 4 894-907. 2000.
  32. Shiffner E. *et al. Elaboración casera de carne y embutidos*. Acribia. España. 2005
  33. Schrezenmeir J, de Vrese M. *Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition*. Am J Clin Nutr 2001. 73:361-364.
  34. St-Onge MP, Farnworth ER, Jones PJM. *Consumption of fermented and nonfermented dairy products: effects on cholesterol concentrations and metabolism*. Am J Clin Nutr 2000; 71: 674-681.
  35. Trene, N. Probiotics. *Nature internal healers*. Paragon Press, Honesdale PA. Primera edición. New York. 1998
  36. Vanderhoof JA, Young RJ. *Use of probiotics in childhood gastrointestinal disorders*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1998; 27: 323-332.
  37. Yagüe A., Yagüe, F. *Preparación, fabricación y defectos de los embutidos curados*. Publicaciones técnicas alimentarias. Ediciones Ayala. Madrid 1992.

## XI. ANEXOS

### A. FOTOGRAFÍAS

Fotografía No.1. Mezcla de carne y grasa



Fotografía No.2. Mezcla de carne y grasa



Fotografía No. 3. Pasta antes de embutir



Fotografía No. 4. Muestras de embutidos



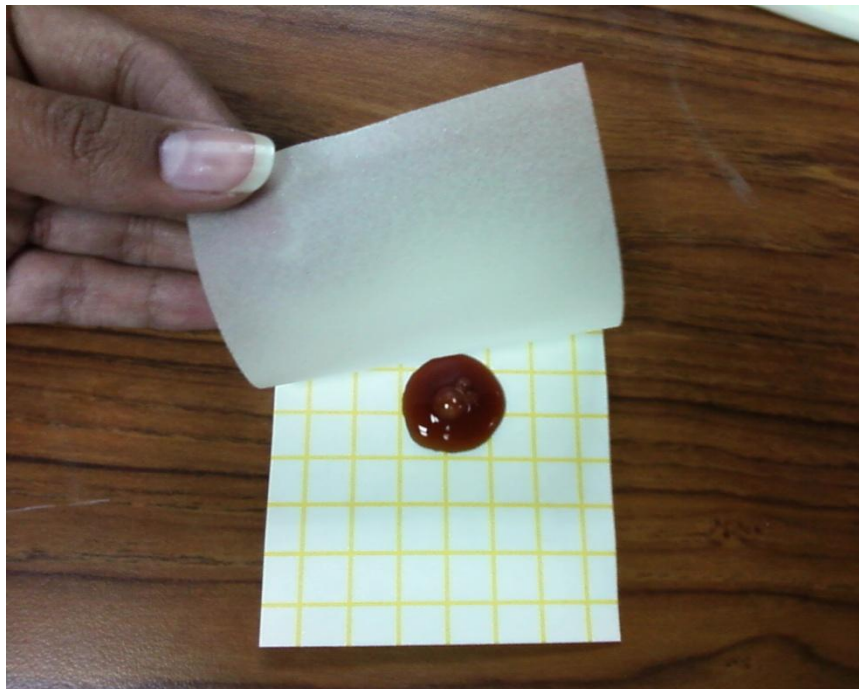
Fotografía No. 5. Determinación de actividad de agua



Fotografía No. 6. Determinación de la viabilidad de microorganismos 1



Fotografía No. 7. Determinación de la viabilidad de microorganismos 2



Fotografía No. 8. Determinación de la viabilidad de microorganismos 3



Fotografía No. 9. Determinación de la viabilidad de microorganismos 4



Fotografía No. 10. Determinación de la viabilidad de microorganismos 5

